

JOSÉ ROBERTO RIBEIRO GUÉRIOS

DETERMINAÇÃO DA FLORA MICROBIANA DO
CENTRO CIRÚRGICO DO HOSPITAL DE CLÍNICAS
DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre.

CURITIBA

1989

Este trabalho é dedicado
à minha esposa Ercília e às minhas
filhas, Flávia e Roberta, pela resig-
nação com que aceitaram minha
ausência e a todos aqueles que lutam
para reduzir o sofrimento de seus
semelhantes.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Júlio Cezar U. Coelho, pela amizade, paciência e desprendimento na orientação deste estudo.

Ao Prof. Dr. Osvaldo Malafaia, Coordenador do Mestrado em Clínica Cirúrgica da Universidade Federal do Paraná, pelo constante estímulo e dignificante exemplo de espírito científico.

Ao Prof. Dr. Giocondo V. Artigas, pelo constante exemplo de competência e dignidade profissional.

Ao Dr. João B. Marchesini, pelas incontáveis demonstrações de amizade, apoio e pelo permanente estímulo em minha formação.

A equipe do Laboratório de Parasitologia e Análises Clínicas "PARANALISE", pela inestimável colaboração, presteza, competência e profunda dedicação na realização das pesquisas que orientaram este trabalho.

A Dra. Carmen Kataoka, pela execução das culturas de água.

Ao Dr. Luiz Carlos Almeida de Domênico, pela ajuda na realização do estudo estatístico.

As Dras. Rita Bernadete G. Bornia e Maria Antonieta G. Cava, ao Dr. Miguel João Cocicov Jr. e às bibliotecárias

Suzana Guimarães Castilho, Aurea Maria Costin e Clarice Siqueira Gusso pelo auxílio na pesquisa bibliográfica.

A Dra. Maria Terezinha C. Leão, chefe da Comissão de controle de infecção hospitalar do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, pela revisão e valiosas sugestões apresentadas.

Aos meus pais, pelo apoio desmedido desde o início da minha formação.

A minha esposa, companheira fiel, cujo apoio e dedicação muito auxiliou na realização deste trabalho.

SUMÁRIO

<u>INTRODUÇÃO</u>	1
<u>HISTÓRICO</u>	5
<u>MATERIAL E MÉTODOS</u>	10
Grupo I - Culturas de vários locais do centro cirúrgico.....	10
Método de colheita.....	10
Preparo dos meios de cultura.....	11
Semeadura.....	12
Incubação.....	13
Identificação das bactérias e fungos.....	13
Provas de identificação.....	14
Provas de identificação de <u>Staphylococcus</u> sp.	14
Prova de sensibilidade à penicilina.....	17
Provas de identificação de bacilos Gram-negativos....	18
Provas de identificação de <u>Pseudomonas</u> sp.	20
Grupo II - Culturas de água.....	24
Método de colheita.....	24
<u>RESULTADOS</u>	26
Culturas bacteriológicas.....	26
Culturas micológicas.....	35
Culturas de água de torneira.....	40
<u>DISCUSSÃO</u>	41
<u>CONCLUSÕES</u>	58
<u>SUMMARY</u>	60
<u>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</u>	62

LISTA DE TABELAS

1	Culturas bacteriológicas positivas das amostras obtidas do piso das salas de cirurgias.....	27
2	Culturas bacteriológicas positivas das amostras obtidas das torneiras dos lavabos do centro cirúrgico.....	28
3	Culturas bacteriológicas positivas das amostras obtidas dos laringoscópios do centro cirúrgico.....	29
4	Culturas bacteriológicas positivas das amostras obtidas das sondas endotraqueais do centro cirúrgico.....	30
5	Culturas bacteriológicas positivas das amostras obtidas dos tubos dos respiradores do centro cirúrgico.....	31
6	Culturas bacteriológicas positivas das amostras obtidas das bacias com o anti-séptico álcool iodado.....	32
7	Culturas bacteriológicas positivas das amostras obtidas dos campos cirúrgicos estéreis.....	33
8	Culturas bacteriológicas positivas das amostras obtidas dos colchões das mesas de cirurgia.....	34
9	Culturas bacterianas positivas de todas as amostras obtidas de diversos locais do centro cirúrgico.....	35
10	Culturas micológicas positivas das amostras obtidas do piso das salas do centro cirúrgico.....	36

11	Culturas micológicas positivas das amostras obtidas das torneiras dos lavabos.....	36
12	Culturas micológicas positivas das amostras obtidas dos laringoscópios.....	37
13	Culturas micológicas positivas das amostras ob- tidas dos tubos dos respiradores.....	37
14	Culturas micológicas positivas de todas as a- mostras obtidas de diversos locais do centro cirúrgico.....	39
15	Resultado de todas as culturas bacteriológi- cas e micológicas da água de torneira.....	40

RESUMO

Com o objetivo de determinar a flora microbiana existente no centro cirúrgico do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, realizaram-se 100 culturas para bactérias e 100 culturas para fungos de vários locais do centro cirúrgico, no período de 29/09/86 a 10/02/87. Foram também realizadas 5 culturas da água das torneiras dos lavabos, proveniente da rede pública, para determinar possível fonte de contaminação. Houve crescimento de bactérias em 9 amostras (90,0%) do piso das salas, 3 amostras (30,0%) das torneiras dos lavabos, 6 amostras (60,0%) dos laringoscópios, 6 amostras (60,0%) das sondas endotraqueais, 4 amostras (40,0%) dos tubos dos respiradores, 3 amostras (30,0%) das bacias com álcool iodado, 2 amostras (20,0%) dos campos cirúrgicos e 10 amostras (100,0%) dos colchões das mesas cirúrgicas. As bactérias mais frequentemente isoladas foram o Staphylococcus epidermidis (53,5%) e o Staphylococcus saprophyticus (46,5%), com um índice global de 76,7% de resistência à penicilina. Gram-negativos cresceram em 2 amostras (20,0%) dos laringoscópios. O crescimento de fungos ocorreu em 2 amostras (20,0%) do piso das salas, 2 amostras (20,0%) das torneiras dos lavabos, 2 amostras (20,0%) das lâminas dos laringoscópios, 1 amostra (10,0%) das sondas endotraqueais, 2 amostras (20,0%) dos tubos dos respiradores e 1 amostra (10,0%) dos colchões das mesas cirúrgicas. Os fungos mais frequentemente isolados foram os filamentosos (80,0%) e leveduras (20,0%). Não houve crescimento de bactérias e fungos nos fios de sutura de ácido poliglicólico 00 e nas luvas cirúrgicas obtidas de pacotes selados. Não houve crescimento de fungos nas bacias com álcool iodado e nos campos cirúrgicos. Não foram isoladas bactérias nas 5 culturas de água. Entretanto, o crescimento de fungos ocorreu em todas as culturas de água (100,0%), variando de 2 a 8 colônias por mililitro. Podemos concluir que a flora microbiana do centro cirúrgico do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná era predominantemente composta por Staphylococcus epidermidis e Staphylococcus saprophyticus altamente resistentes à penicilina. Os métodos utilizados no controle da flora microbiana do ambiente cirúrgico não foram efetivos contra Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus saprophyticus e fungos. As torneiras dos lavabos não eram importantes reservatórios de bactérias e fungos. Os cuidados dispensados aos laringoscópios, cânulas endotraqueais e tubos dos respiradores eram inadequados, requerendo reavaliação criteriosa. Naquelas condições, a possibilidade de contaminação por bactérias e fungos da orofaringe e árvore traqueobrônquica dos pacientes submetidos a intubação endotraqueal poderia ser de até 94,5%. O processo de esterilização empregado nos fios de sutura de ácido poliglicólico e nas luvas cirúrgicas eram eficazes contra bactérias e fungos. As bacias com o anti-séptico álcool iodado permitiram o desenvolvimento de bactérias, requerendo reavalia-

ção criteriosa quanto ao seu uso. O método de limpeza e esterilização dos campos cirúrgicos demonstrou ser ineficiente nesta amostra. Os colchões das mesas cirúrgicas eram importantes reservatórios de bactérias. A água poderia ser uma fonte de contaminação por fungos. Conclui-se deste estudo que, no período de 29/09/86 a 10/02/87, o centro cirúrgico do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná apresentou crescimento expressivo de bactérias e fungos em vários locais e instrumentos, que poderiam ser fontes de infecção pós-operatória em alguns pacientes.

INTRODUÇÃO

Pasteur iniciou em 1863 a investigação científica moderna das causas de um problema que aflige a humanidade desde o início de sua história: a infecção.

Baseado nestes estudos, Joseph Lister em 1867 propôs a primeira medida de anti-sepsia através da lavagem das mãos, das feridas e dos instrumentos cirúrgicos com ácido fênico, contrariando as teorias dos miasmas tão comuns naquela época (12, 70).

Desde então, inúmeros estudos determinaram profunda evolução no conhecimento das infecções, assim como o advento dos antibióticos, que revolucionaram o arsenal médico no controle desse problema. Porém, o uso indiscriminado desses antimicrobianos resultou em um contínuo processo de seleção de germes resistentes, favorecendo o aparecimento de infecções hospitalares de difícil controle (2, 4, 6, 8, 15, 42, 43, 61, 63, 65).

Atualmente, 70% das infecções das feridas cirúrgicas ocorre por germes hospitalares, mais frequentemente o Staphylococcus sp. (17). Muitos fatores têm participado da patogênese dessa infecção, principalmente aqueles relacionados ao hospedeiro e ao ambiente do centro cirúrgico (66).

Embora grandes esforços estejam sendo realizados na tentativa de reduzir os índices de infecção pós-cirúrgica, estima-se que ocorram 325 mil infecções em feridas cirúrgicas a cada ano nos Estados Unidos (60). Diferentes autores relatam

índices de infecção da parede abdominal que variam de 4,7% a 17% (22) e estima-se que os custos causados pela infecção pós-cirúrgica da ferida operatória nos Estados Unidos sejam de 130 a 845 milhões de dólares a cada ano (60). Portanto, além da grande morbidade e mortalidade associadas à infecção, ocorre uma elevação acentuada dos custos, agravados pelo prolongamento do período de internação (59). Segundo Cruse (21, 22) a infecção da parede abdominal aumenta o período de internamento em 10,1 dias em média; e o custo do paciente infectado se eleva em 400 dólares a cada dia. O custo final do tratamento se eleva entre 6.700 e 9.500 dólares.

Cohen (17) em estudo semelhante, observou que o período de internação dos pacientes com infecção se elevou em média 17,6 dias. Mayhall (60) observou que o aumento do custo do tratamento dos pacientes com infecção se elevou de 400 a 2.600 dólares.

Stone et. al., citado por Cruse (21) estimou a média do custo adicional causado por uma infecção de parede ou peritônio em 2.686 dólares apenas na parte hospitalar.

Deve-se computar ainda uma série de fatores que certamente aumentam estes custos, como a utilização de novos antibióticos causados pelo aparecimento de cepas de microorganismos mais resistentes e que exigem também estudos laboratoriais mais sofisticados, as perdas pela falta ao trabalho, elevação dos honorários médicos, etc. A mortalidade elevada da infecção gera custos com indenizações, além da perda de mão de obra produtiva. Exige ainda grandes investimentos em isolamentos, pesquisas de novos antimicrobianos, reoperações e até no desenvolvimento de nova metodologia no manejo do paciente com infecção (18, 22, 82).

Outro fator agravante está na grande falta de leitos hospitalares que ocorre em nosso meio, além da falta de recursos que há longo tempo vem sucateando toda a estrutura hospitalar, elevando o risco de infecções, o que, como já citamos anteriormente, exigirá enormes recursos para seu controle.

O hospital é um lugar insalubre por natureza e devemos cuidar para que continue sendo um lugar para promover saúde e não o local para se adquirir mais doenças (8, 75).

É necessária uma profunda reavaliação das técnicas executadas nos hospitais, que muitas vezes são mantidas erradas por várias gerações por desinformação ou tradição. A infecção cruzada é de fácil prevenção através do conhecimento e aplicação correta dos cuidados médicos e de enfermagem.

A infecção hospitalar é causada em aproximadamente 30 a 40% das vezes por germes da microbiota normal do paciente (35) que, nos procedimentos invasivos levam a complicações por contaminação dos tecidos adjacentes (5, 18, 33). Neste caso, a melhora dos cuidados de anti-sepsia leva a uma sensível redução dos índices de infecção hospitalar.

É muito difícil determinar a real concorrência do ambiente hospitalar na incidência da infecção nosocomial, especialmente nos pacientes cirúrgicos, pois existem inúmeras variáveis particulares para cada caso (44).

Nos últimos anos, esse problema tem recebido especial atenção em nosso meio e muitos esforços tem sido envidados na tentativa de prevenir a infecção hospitalar. É requisito indispensável o conhecimento dos tipos de germes existentes e quais os antibióticos mais usados em cada meio, para então se falar em prevenção da infecção hospitalar, especialmente no

paciente cirúrgico.

O objetivo desse estudo é a determinação da flora bacteriana de vários locais do centro cirúrgico do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, como subsídio inicial para o estudo das medidas profiláticas da infecção pós-operatória neste centro médico. Nosso estudo foi baseado na pesquisa de bactérias e fungos de vários locais, instrumentos e da água dos lavabos do centro cirúrgico.

HISTORICO

Antony Van Leeuwenhoek, nascido em 1632 na Holanda, foi o primeiro ser humano a contemplar um mundo novo e misterioso, composto por milhares de espécies de seres minúsculos, através de microscópios simples e primitivos que ele mesmo construía (49, 68).

Muito antes, porém, assinalava-se no Ceilão a existência de hospitais cinco séculos antes de Cristo, fato confirmado por documentos históricos. Na Ilha de Cós, conquistada por Podalírio, filho de Esculápio ou Asclépio, foi fundado o Asclépio, a cuja sombra se formou e pontificou o gênio de Hipócrates (460 - 370 a.C.) que observou os efeitos da infecção na cicatrização das feridas. Dele partiram os primeiros cuidados de anti-sepsia, através da limpeza das mãos e das unhas antes da operação e o uso de água fervida e vinho no cuidado das feridas. Roma, sob inspiração da Grécia, construiu organizações hospitalares do tipo asclepiano (27, 73).

Lucretius (96-55 a.C.) observou a característica de transmissibilidade das moléstias, reconhecendo a existência de "sementes" das doenças (33).

Galeno (131-201) estabeleceu as bases da escola greco-romana, reunindo os ensinamentos de Hipócrates aos conhecimentos egípcios da escola de Alexandria. Criou ainda a teoria humoral sobre a origem das doenças (33, 73).

Seguiram-se séculos de obscurantismo, com a estagnação e a degradação da arte médica, agravados pela ascensão do cristianismo, que restringiu o exercício da medicina aos monges, por um decreto de Constantino, o que transformou as organizações existentes em hospitais cristãos (27, 33).

Após quase um milênio no esquecimento, Ugo de Lucca (1100) e Theodorico (1205-1296) reviveram os conhecimentos de anti-sepsia preconizados por Galeno no tratamento das feridas (33, 73).

Hieronymus Francastorius em 1546 foi o primeiro a postular a idéia de que o contágio fosse devido a agentes vivos, criando assim a doutrina do "contagium vivum". Francastorius distinguiu também as três formas de contágio: contágio direto (pelo contato), o contágio indireto (por meio de objetos de uso do doente) e o contágio à distância (12, 13).

Durante dois séculos esta doutrina foi discutida apenas sobre as bases de especulações teóricas, até que em 1768 Plenciz, reconhecendo a descoberta dos micróbios por Leeuwenhoek em 1675, atribuiu àqueles não apenas a causa das doenças, como também sugeriu que cada doença teria o seu micróbio específico (12, 13, 49, 68).

Após a revelação, por Leeuwenhoek, da existência do mundo dos organismos microscópicos, ainda permanecia a dúvida sobre sua origem. Needham (1749) ferveu uma infusão orgânica para destruir qualquer ser vivo que ali houvesse, fechou-a com uma rolha de cortiça e verificou que apesar disto a infusão se turvou de micróbios após algum tempo. Estes, já que não poderiam ter vindo de outros pré-existentes naquele meio, deveriam então ter aparecido por geração espontânea (12, 68).

Spallanzani, em 1776, refutou esta idéia, pois fervendo prolongadamente uma infusão de carne, colocou-a em um frasco previamente aquecido e fechou-a hermeticamente, observando então que não se desenvolviam micróbios (12, 49, 68).

Comprovadas essas observações por outros pesquisadores, Pouchet preconizou que, com o aquecimento, expulsava-se

o ar que seria essencial para a geração espontânea.

Pasteur (1861) conseguiu então demonstrar que infusões fervidas permaneciam lípidas em frascos abertos desde que estes possuíssem um colo com trajeto sinuoso onde os micróbios ficavam retidos e o ar passava livremente. Com esta experiência Pasteur venceu a batalha da geração espontânea e as eventuais objeções ao seu trabalho deixaram então de ser levadas a sério (12).

Em 1848 Henle expôs suas idéias sobre o contágio através de observações nos doentes com varíola e estabeleceu as condições para que um agente particular fosse considerado causador de doença infecciosa:

1. Deveria ser encontrado com constância no corpo do doente.
2. Deveria ser possível isolá-lo e com ele poder-se-ia reproduzir experimentalmente a doença.

Apesar disto, em 1860 Petteukofer tentou ainda sustentar a idéia de que a causa das doenças infecciosas tinha relação com o solo e que os micróbios deviam sofrer uma espécie de maturação antes de se tornarem infectantes. Teoria esta derrubada por Pasteur no ano seguinte nas já citadas investigações sobre a geração espontânea.

O ar estando livre de germes e as putrefações sendo obra de micróbios, deveria ser possível evitar infecções cirúrgicas desinfectando previamente o instrumental, o campo operatório e as mãos do cirurgião (Lister, 1867) (70, 73). Foi assim instituída a cirurgia anti-séptica, inicialmente recebida com considerável ceticismo mas que se tornou uma prática comum a medida que se foi observando seu sucesso na prevenção da infecção cirúrgica.

Semmelweis em 1847 já havia observado que a mortalidade por infecção nas enfermarias em que trabalhavam estudantes era mais elevada que nas atendidas por parteiras. Convicto de que isto se devia à vinda dos estudantes diretamente da sala de dissecações para a enfermaria, Semmelweis exigiu destes, a desinfecção das mãos em hipoclorito de sódio, fazendo assim a mortalidade por infecção puerperal baixar de 12% para 1,2% no Hospital Geral de Viena (70, 73).

Em 1878 Pasteur comunicou à Academia de Ciências de Paris seus estudos sobre a existência dos germes, demonstrando a teoria microbiana da infecção. Pasteur trabalhava então com meios de cultura líquidos, enquanto Koch, em 1881, introduziu os meios sólidos que facilitaram grandemente a técnica de cultivo de bactérias. Koch desenvolveu ainda a técnica de fixação e coloração atualmente utilizadas em estudos histológicos. Em 1882, Koch publicou a sua contribuição sobre a etiologia da tuberculose e no ano seguinte descobriu o vibrião da cólera. Em seguida, Loeffler descobriu o bacilo da difteria e Gaffky o bacilo tífico (12, 13).

No ano de 1880, von Bergmann introduziu o uso de autoclaves no preparo do material cirúrgico, sendo este um marco histórico do início da cirurgia asséptica (22).

Fatos ainda particularmente importantes foram a descoberta do primeiro vírus filtrável em 1898 por Loeffler e Frosch (vírus da febre aftosa), a descoberta da espiroqueta da sífilis em 1905 por Schaudinn e o trabalho sobre o agente etiológico do tifo exantemático, as rickettsias, por Rocha Lima em 1916 (12).

Grandes avanços ocorreram no campo da microscopia com a descoberta do ultra microscópio em 1903 por Siedentopf e Zsigmondy, a fotomicrografia com raios ultravioleta por Barnard

em 1919 e o microscópio eletrônico por Ruska em 1934.

Numerosos progressos foram realizados nos métodos de coloração e dos meios de cultura, em que se empregaram tecidos vivos.

Após este período, o ritmo acentuado de descobertas torna difícil relatar em detalhes os novos avanços na área da infecção hospitalar.

Na prática, esses avanços vieram a incrementar os conhecimentos e conseqüentemente a melhora do manejo clínico dos pacientes acometidos por infecções. Também clarearam as idéias sobre os problemas que ocorrem no ambiente que abriga esses pacientes e que nos últimos anos tem se agravado sobremaneira.

No Brasil, o problema vem sendo estudado há longo tempo, mas passou a receber especial atenção só nos últimos anos, tendo-se observado grandes avanços nas pesquisas e nas medidas de prevenção da infecção hospitalar, a exemplo de outros países.

Em nosso meio, Ferraz, Zanon, Vasconcelos, Hutzler e outros têm se sobressaído no estudo da infecção relacionada ao ambiente nosocomial, que abrange todos os escalões da estrutura hospitalar e até mesmo extra-hospitalares.

Altemeier, citado por Ferraz (33), resumiu magnificamente o problema considerando que, apesar de todos os avanços experimentados no campo da bacteriologia, da aplicação de todas as técnicas de anti-sepsia e assepsia, da imunização e do uso dos antibióticos, a infecção é um sério problema que ainda permanece, a nível mundial.

MATERIAL E MÉTODOS

Um total de 205 culturas foram realizadas a partir de amostras colhidas de vários locais do centro cirúrgico do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, no período de 29/09/86 a 10/02/87. As culturas foram divididas em dois grupos. No grupo I, foram realizadas 200 culturas de 10 locais e equipamentos do centro cirúrgico, 20 de cada ponto pré-determinado, sendo que 10 eram para bactérias e 10 para fungos. No grupo II foram feitas 5 culturas da água de 5 torneiras dos lavabos do centro cirúrgico, que eram empregadas na lavagem das mãos e antebraços dos cirurgiões e suas equipes.

Grupo I - Cultura de vários locais do centro cirúrgico

1. Método de colheita

Foram realizadas 10 colheitas para bactérias e 10 para fungos de 10 pontos pré-determinados de 10 salas de cirurgias do centro cirúrgico e seus respectivos lavabos e equipamentos, como enumeramos a seguir:

1.1 - Piso da entrada da sala.

1.2 - Pegadores das torneiras dos lavabos.

1.3 - Lâmina de laringoscópio pronta para uso, que tinha sido previamente lavada com água e polivinilpirrolidona-I (PVP-I) ou sabão.

1.4 - Sonda endotraqueal pronta para uso, que tinha sido previamente lavada com detergente e escova, enxaguada, colocada em glutaraldeído por 30 minutos e enxaguada em água esterilizada.

1.5 - Tubo do respirador.

1.6 - Fio de sutura de ácido poliglicólico número 00, obtido de pacote selado.

1.7 - Luva cirúrgica estéril descartável, obtida de pacote selado.

1.8 - Bacia contendo álcool iodado a 0,6% de iodo ativo, empregado na anti-sepsia das mãos e antebraços da equipe cirúrgica.

1.9 - Campo cirúrgico esterilizado em autoclave a 127°C, por 30 minutos.

1.10 - Colchão da mesa cirúrgica.

Todas as culturas de bactérias e fungos do grupo I foram realizadas no Laboratório de Parasitologia e Análises Clínicas Paranalise, nesta capital, assim como o preparo dos meios de cultura e as provas de identificação dos microorganismos encontrados.

2. Preparo dos meios de cultura

O meio de cultura utilizado na pesquisa de bactérias foi o Mueller Hinton (DIFCO), acrescido de anti-inibidores e enriquecedor. A finalidade dos anti-inibidores foi de neutralizar a ação residual dos degermantes utilizados na anti-sepsia do ambiente cirúrgico. O uso de enriquecedor no meio de cultura visa suprir as exigências vitais dos microorganismos mais sensíveis (34). Os anti-inibidores utilizados e suas respectivas concentrações foram: tween 80 a 1% (MERCK) (inibidor da PVP-I), lecitina de soja a 0,5% (INLAB) (inibidor da Clorhexidina) e tiossulfato de sódio a 1% (MERCK) (inibidor da PVP-I) (14, 19, 20, 46, 56). O enriquecedor usado foi o biovitalex a 5%.

Para o acerto do grau de acidez (pH) do meio, foi utilizado o hidróxido de sódio (NaOH) a 20% e o ácido clorí-

drico (HCl) a 20%. O pH utilizado neste estudo foi de 7,4, mais ou menos 0,2 (34).

A técnica de preparo do meio seguiu as etapas que se descrevem a seguir:

2.1 . Diluição do meios

- Meio de Mueller Hinton38g
- Tween 8010 ml (1%)
- Lecitina de soja5 ml (0,5%)
- Tiosulfato de sódio10g (1%)
- Água destilada.....q.s.p. 1000 ml

2.2 . Acerto do pH:

- Adicionado NaOH a 20% e HCl a 20% até chegar ao pH de 7,4 mais ou menos 0,2.

2.3 . Esterilização do meios

- Autoclavação a 120°C por 15 minutos.

2.4 . Resfriamento até 50°C.

2.5 . Adição de biovitalex na proporção de 5%, isto é, 20 ml para cada 400 ml do meio.

2.6 . Distribuição nas placas.

2.7 . Secagem da água de condensação e controle de esterilidade em estufa a 37°C por 24 horas.

O meio de cultura utilizado na pesquisa de fungos foi o ágar Sabouraud (LABORCLIN), em sua forma padrão (50).

3. Semeadura

A semeadura foi feita por estrias, utilizando-se

swab estéril umedecido em soro fisiológico, em Mueller Hinton e ágar Sabouraud, obedecendo à sequência já estabelecida (14, 34). Em seguida, os meios de cultura foram levados prontamente ao laboratório, sempre dentro de um intervalo de tempo inferior a uma hora.

4. Incubação

O meio de Mueller Hinton permaneceu em estufa a 37°C, por 24 a 48 horas e o meio de ágar Sabouraud ficou à temperatura ambiente por 30 dias.

5. Identificação das bactérias e fungos

As colônias bacterianas desenvolvidas no meio de Mueller Hinton foram inicialmente submetidas à bacterioscopia pelo método de Gram. Foram repicadas a seguir para meios específicos, seletivos quando necessário e posteriormente submetidas a provas de identificação bioquímica (34, 72).

As cepas de fungos desenvolvidas no meio de ágar Sabouraud no período de 30 dias, foram submetidas a coloração com lactofenol. O material foi levado ao microscópio entre lâmina e laminula onde se observou a morfologia dos órgãos de frutificação o que permitiu a identificação do gênero. Para algumas espécies, tornou-se necessário o microcultivo em ágar batata, que, por ser um meio muito pobre, induz à esporulação do fungo. Isto permitiu a observação dos órgãos de frutificação que porventura não tinham sido observados diretamente do ágar Sabouraud. Este processo consistiu em semear o fungo em ágar batata entre lâmina e laminula estéreis e incubou-se por 24 a

48 horas em câmara úmida à temperatura ambiente. Depois retirou-se cuidadosamente a lamínula, colocou-se em lâmina com lactofenol e observou-se ao microscópio com aumento de 400 vezes. Devido à necessidade de esporulação apresentada pelo fungo em função da falta de nutrientes no meio de cultura, foi possível observar com maior nitidez os órgãos de frutificação e dessa forma determinar o género e a espécie (50).

5.1 Provas de identificação

As provas de identificação foram específicas para cada tipo de germe, sendo empregado o seguinte esquema:

5.1.1 Provas de identificação para Staphylococcus sp.

5.1.1.1 - Bacterioscopia pelo método de Gram

Preparou-se um esfregaço homogêneo, delgado, com uma alçada da colônia em estudo e uma gota de solução salina em uma lâmina, a qual foi colocada em solução cristal violeta fenicada por um minuto. A seguir escoadou-se o corante e cobriu-se o esfregaço com solução de lugol forte por um minuto. O esfregaço foi lavado com água corrente e descorado com solução de álcool-acetona na proporção de 1:3, por aproximadamente 30 segundos, até esgotar o excesso do corante. O esfregaço foi lavado em água corrente e corado com fucsina fenicada diluída em água na proporção de 1:10 por aproximadamente 30 segundos. Lavou-se em água corrente e deixou-se secar. Levou-se ao microscópio para observação em lente objetiva de imersão com aumento final de 1000 vezes. Os germes Gram-positivos apresentaram coloração violeta e os Gram-negativos apresentaram coloração vermelha.

5.1.1.2 - Prova da catalase

Esta prova foi realizada após a bacterioscopia pelo método de Gram e teve por finalidade diferenciar o Staphylococcus sp. do Streptococcus sp. pela identificação da enzima catalase, presente no gênero Staphylococcus sp.. Utilizou-se o seguinte método: em uma gota de solução fisiológica sobre uma lâmina de vidro, emulsionou-se a colônia da bactéria em estudo. Sobre a suspensão, pingou-se uma gota de água oxigenada a 30%. A formação imediata de bolhas de oxigênio indicou a existência da enzima catalase e portanto a prova foi positiva para Staphylococcus sp.

5.1.1.3 - Provas de identificação da espécie

5.1.1.3.1 Prova do Manitol

Utilizou-se o meio de cultura ágar de manitol-sal comum-vermelho de fenol. Fez-se a semeadura da bactéria em estudo em placas contendo este meio e incubou-se por 18 a 24 horas a 37°C.

A prova foi considerada positiva nos casos em que a zona de repique tornou-se de cor amarela. Nesta situação o germe em questão foi supostamente o Staphylococcus aureus. Procedeu-se então às provas de confirmação a seguir especificadas. Se a zona de repique permanecesse com a cor vermelha natural do meio, o resultado seria considerado negativo e o germe em questão poderia ser o Staphylococcus saprophyticus ou Staphylococcus epidermidis, posteriormente identificados por provas específicas.

5.1.1.3.2 Prova da coagulase

Esta prova verificou a capacidade do microorganismo

coagular o plasma através da enzima coagulase, que se apresenta sob duas formas: coagulase ligada e coagulase livre.

A coagulase ligada converte o fibrinogênio em fibrina diretamente, sem os fatores de coagulação. A coagulase livre reage com o fator de coagulação do plasma, formando uma substância semelhante à trombina. Esta substância converte o fibrinogênio em fibrina, utilizando plasma citratado humano ou de coelho, estéril e diluído na proporção de 1:4 de solução fisiológica. Utilizou-se o método em tubo, que é mais sensível para detectar tanto a coagulase ligada quanto a livre. Usaram-se colônias crescidas em meio ágar-manitol-sal comum-vermelho de fenol, pois a produção da enzima coagulase se intensifica quando o germe é crescido em meio contendo alta concentração de cloreto de sódio.

Semeou-se o germe em estudo, em um tubo contendo o plasma diluído e incubou-se a 37°C, por 24 horas. Fizeram-se leituras periódicas a cada duas horas, pois algumas espécies produzem também a estafiloquinase que dissolve o coágulo formado. (Fibrinólise).

Procurou-se utilizar sempre colônias puras, pois a presença de uma colônia de Streptococcus sp. beta-hemolítico destrói qualquer coágulo formado, levando a resultados falso-negativos.

A presença de coagulação foi considerada como resultado positivo, que indica ser o germe em questão o Staphylococcus aureus.

5.1.1.3.3 Prova da sensibilidade à novobiocina:

Esta prova teve por finalidade avaliar a sensibilidade de certas espécies de Staphylococcus sp. em presença da

novobiocina. Semeou-se a bactéria em estudo numa placa de ágar sangue. Sobre ela, colocou-se um disco de novobiocina de 5 microcentigramas e incubou-se a 37°C, por 18 a 24 horas. Se houve a formação de halo de inibição do crescimento com mais de 16 mm, significou que o germe foi sensível, o que definiu a presença de Staphylococcus epidermidis. A ausência do halo de inibição, ou a presença de halo menor ou igual a 16 mm significou que o germe foi resistente, o que indicou a presença de Staphylococcus saprophyticus.

Os resultados das provas de identificação podem ser resumidos de acordo com o seguinte esquema:

Prova	<u>S.aureus</u>	<u>S.epidermidis</u>	<u>S.saprophyticus</u>
catalase	+	+	+
manitol	+	-	-
coagulase	+	-	-
sens.novobiocina	R	S	R

Após a identificação, a prova de sensibilidade à penicilina foi realizada para as colônias de Staphylococcus sp. pois esta prova é de interesse fundamental para os estudos clínicos e tem por princípio observar o grau de inibição que este antibiótico, por difusão no meio de cultura, consegue determinar no crescimento deste germe (9, 10).

5.1.1.3.4 Prova de sensibilidade à penicilina

Fez-se uma suspensão da colônia de Staphylococcus sp. em solução salina estéril e semeou-se em um meio de Mueller Hinton. Colocou-se sobre a semeadura um disco de penicilina G

de 10 microcentigramas (mcg) (LABORCLIN) e incubou-se a 37 °C, por 24 horas. Fez-se então a leitura do halo de inibição formado ao redor do disco de penicilina. Considerou-se o germe sensível, se o halo de inibição tivesse sido maior ou igual a 29 mm. Quando o halo de inibição foi menor que 29 mm ou ausente, considerou-se o germe resistente à penicilina.

5.1.2 Provas de identificação de bacilos Gram-negativos.

Após a bacterioscopia pelo método de Gram, já descrita anteriormente, os germes considerados Gram-negativos foram isolados e repicados para o meio seletivo de MacConkey, que favorece o crescimento de bacilos Gram-negativos, uma vez que o crescimento de outras bactérias é inibido. Após um período de incubação em estufa a 37°C por 24 horas, iniciaram-se as provas de identificação, que são descritas a seguir.

5.1.2.1 - Prova da fermentação de açúcares

Esta prova teve por finalidade indicar se o germe tinha ou não a capacidade de degradar um açúcar específico incorporado ao meio de cultura, resultando na formação de ácido e ou formação de gás visível. Os açúcares utilizados foram: glicose, lactose, rhamnose e sacarose.

5.1.2.2 - Prova da produção de ácido sulfídrico (H₂S)

Detectou-se a liberação de ácido sulfídrico por ação enzimática, a partir de aminoácidos sulfurados, os quais, reagindo com os íons férricos do citrato de ferro amoniacal existente na composição do meio, produzem um precipitado negro de sulfato ferroso.

5.1.2.3 Prova da motilidade

Utilizando-se o meio semi-sólido do Enterokit LB (LABORCLIN), observou-se a migração das bactérias móveis para fora do ponto de repique.

5.1.2.4 Prova da ornitina

Esta prova teve por objetivo observar a descarboxilação da ornitina, que foi evidenciada pela viragem do pH, ocasionando mudança de cor no meio de cultura. Considerou-se a prova positiva quando a cor do meio se tornou diferente do amarelo. Esta prova auxiliou na identificação de germes Gram-negativos fermentadores de açúcares.

5.1.2.5 Prova da produção de indol

Utilizando-se um meio de cultura rico em triptofano, permitiu-se que as bactérias produtoras de triptofanase hidrolisassem e desaminassem o triptofano, produzindo indol, ácido pirúvico e amônia (NH_3). O indol foi identificado pela formação de um complexo de coloração vermelha quando em presença de reativos que continham o grupo aldeído (para-dimetil-amino-benzaldeído).

5.1.2.6 Prova da degradação da uréia

A degradação da uréia ocorreu por ação da urease, com a liberação de amônia e gás carbônico (CO_2). A amônia reage, em solução, formando o carbonato de amônio, que alcaliniza o meio, elevando o pH. Este aumento foi indicado pela viragem de coloração do meio, que passou do amarelo para o vermelho, mediante a presença do vermelho de fenol encontrado no meio.

5.1.2.7 Prova da degradação do citrato

Baseou-se no princípio de que algumas bactérias utilizam o citrato como fonte de energia, pois o mesmo é para estes germes a única fonte de carbono. Estas bactérias retiram o grupo amino (N_2) de sais de amônio, alcalinizando o meio e produzindo hidróxido de amônio (NH_4OH), que pode ser identificado pelo indicador azul de bromotimol, que assume a coloração azul quando o pH está acima de 7,6.

5.1.2.8 Prova da descarboxilação da lisina

A descarboxilação da lisina gera a cadaverina, que aumenta o pH do meio de 5,6 para 7,0, o que favorece o crescimento das bactérias. Este efeito promoveu a viragem do indicador, que passou do amarelo para o violeta, na parte profunda do tubo.

5.1.3 Provas de identificação de Pseudomonas sp.

Após a bacterioscopia pelo método de Gram, a identificação de bacilos Gram-negativos e o repique destes para o meio seletivo de MacConkey e levado a estufa a 37°C por 24 horas, as colônias foram submetidas às seguintes provas para identificação de Pseudomonas sp..

5.1.3.1 Prova da fermentação da glicose

Esta prova já foi descrita entre as provas de fermentação de açúcares. O Pseudomonas sp. não fermenta a glicose, logo, a prova é negativa.

5.1.3.2 Prova da oxidase

Baseia-se no fato de que a bactéria possui uma

enzima chamada indofenoloxidase, cuja reação de oxidação foi evidenciada quando em presença do reativo tetrametil-parafenil-lenodiamino a 1%. Quando a reação de oxidação foi positiva, a tira de papel impregnada com o reativo adquiriu a cor púrpura.

5.1.3.3 Provas de fermentação e oxidação

As provas de fermentação e oxidação baseiam-se na capacidade de metabolização de carboidratos pela bactéria em duas condições: aeróbica e anaerobicamente. A principal diferença entre elas consiste no fato de ser a fermentação um processo anaeróbico que requer uma fosforilação inicial da glicose antes de sua degradação. A oxidação, na ausência de compostos inorgânicos como o nitrato ou o sulfato, é um processo estritamente aeróbico envolvendo a oxidação direta de uma molécula não fosforilada de glicose, com menor produção de ácido que a fermentação.

5.1.3.4 Formação de pigmento piocianina e fluorceína

É a simples observação da formação do pigmento característico de determinada espécie no próprio meio de cultura de Mueller Hinton.

5.1.3.5 Prova de crescimento a 42°C

Esta prova é caracteristicamente positiva para o Pseudomonas aeruginosa, pois outras espécies não crescem a esta temperatura.

A técnica laboratorial utilizada para as culturas das bactérias e fungos das amostras obtidas dos diversos locais do centro cirúrgico está resumida nas figuras I e II.

FIGURA I - Esquema da técnica de cultura de bactérias das amostras colhidas dos diversos locais do centro cirúrgico.

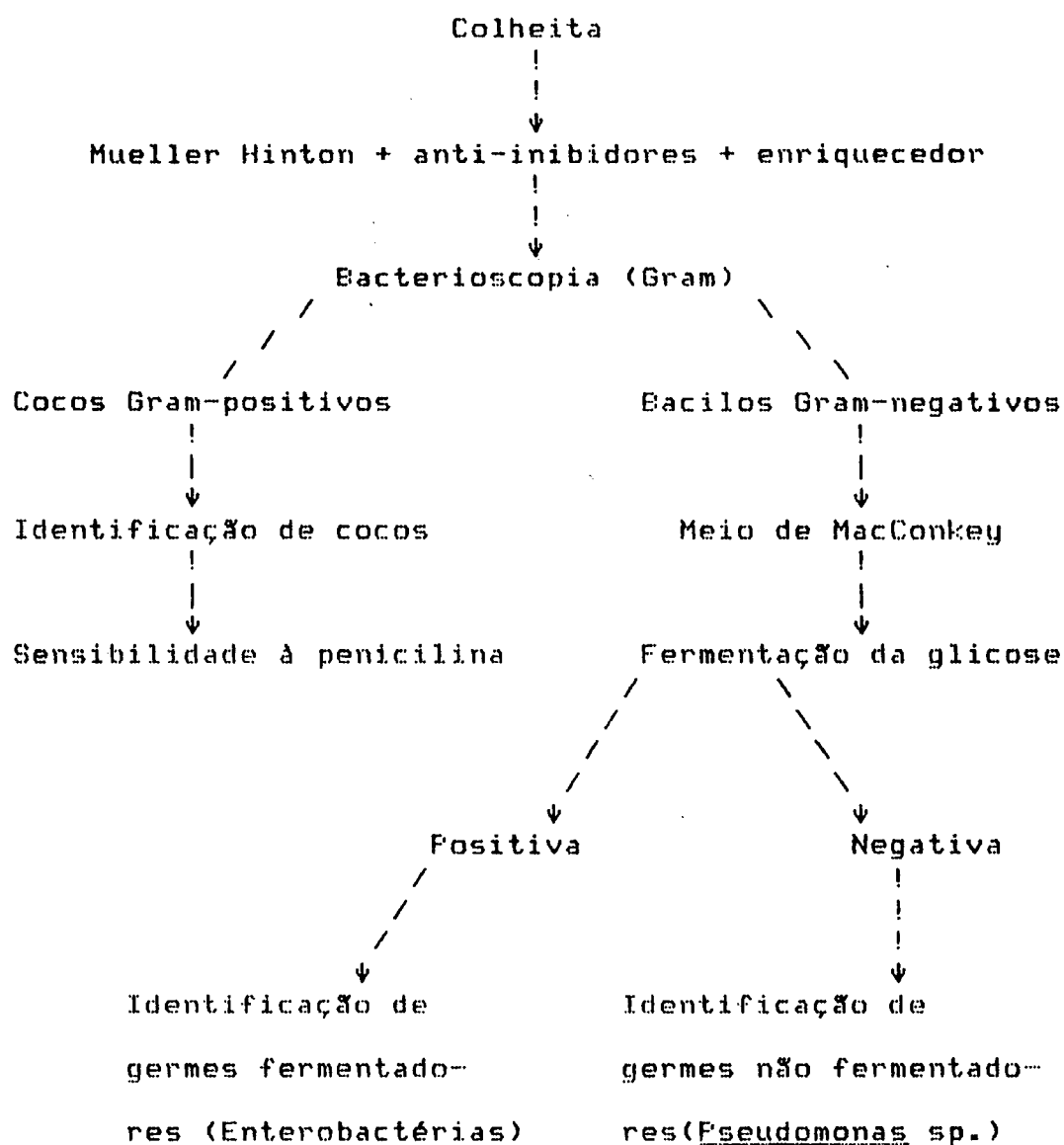
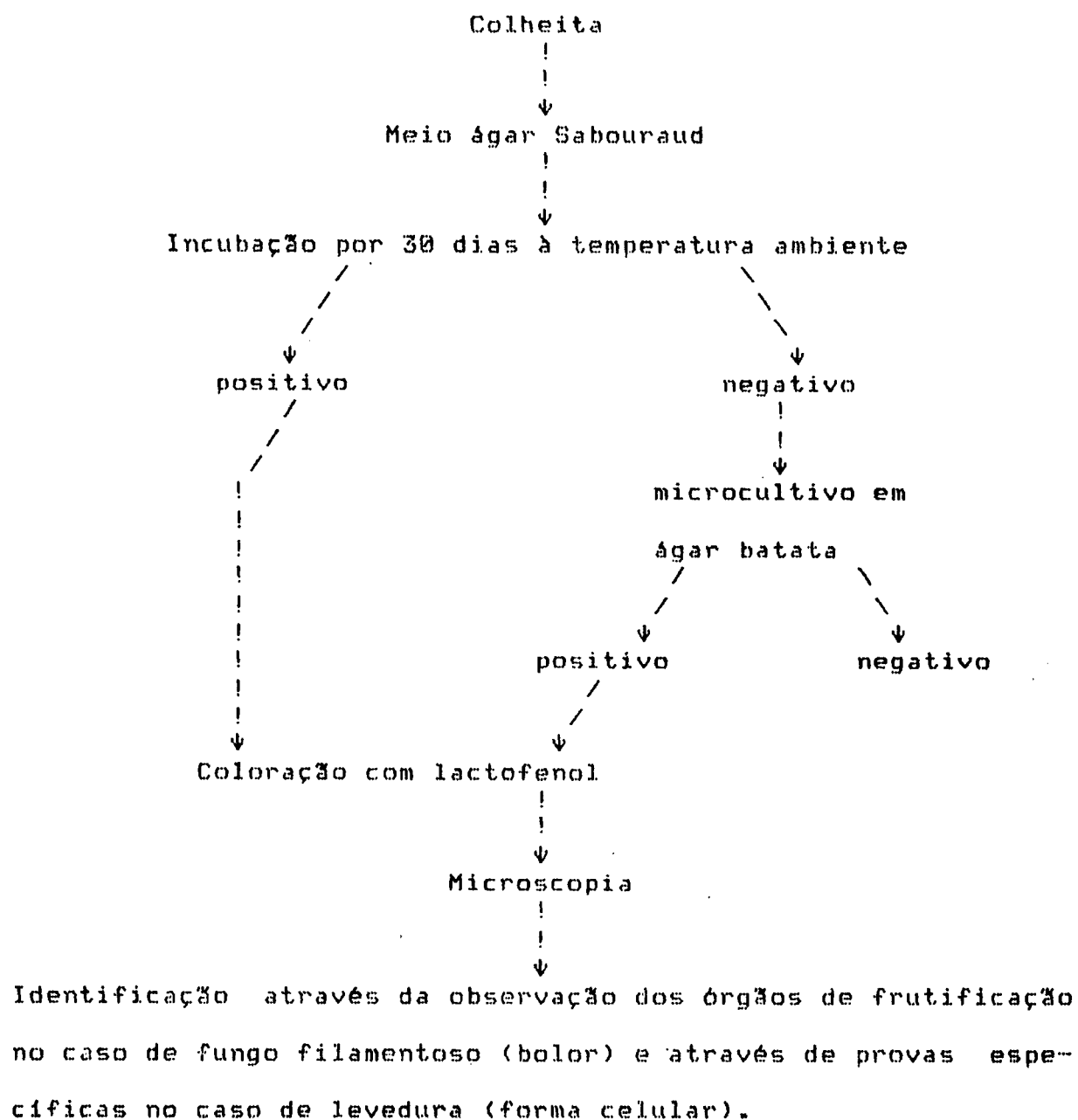


FIGURA II - Esquema da técnica de cultura de fungos das amostras colhidas dos diversos locais do centro cirúrgico.



Grupo II - Culturas de água

1. Método de colheita

Foram colhidas 5 amostras de água fria de diferentes torneiras dos lavabos do centro cirúrgico. O número de 5 amostras foi considerado suficiente, visto que o hospital possui um sistema hidráulico que recebe água tratada da rede pública. As culturas do grupo II foram realizadas nos laboratórios do Instituto de Tecnologia do Paraná (TECPAR), conforme métodos padronizados. Foram observados todos os cuidados de anti-sepsia na colheita das amostras, os quais são expostos a seguir.

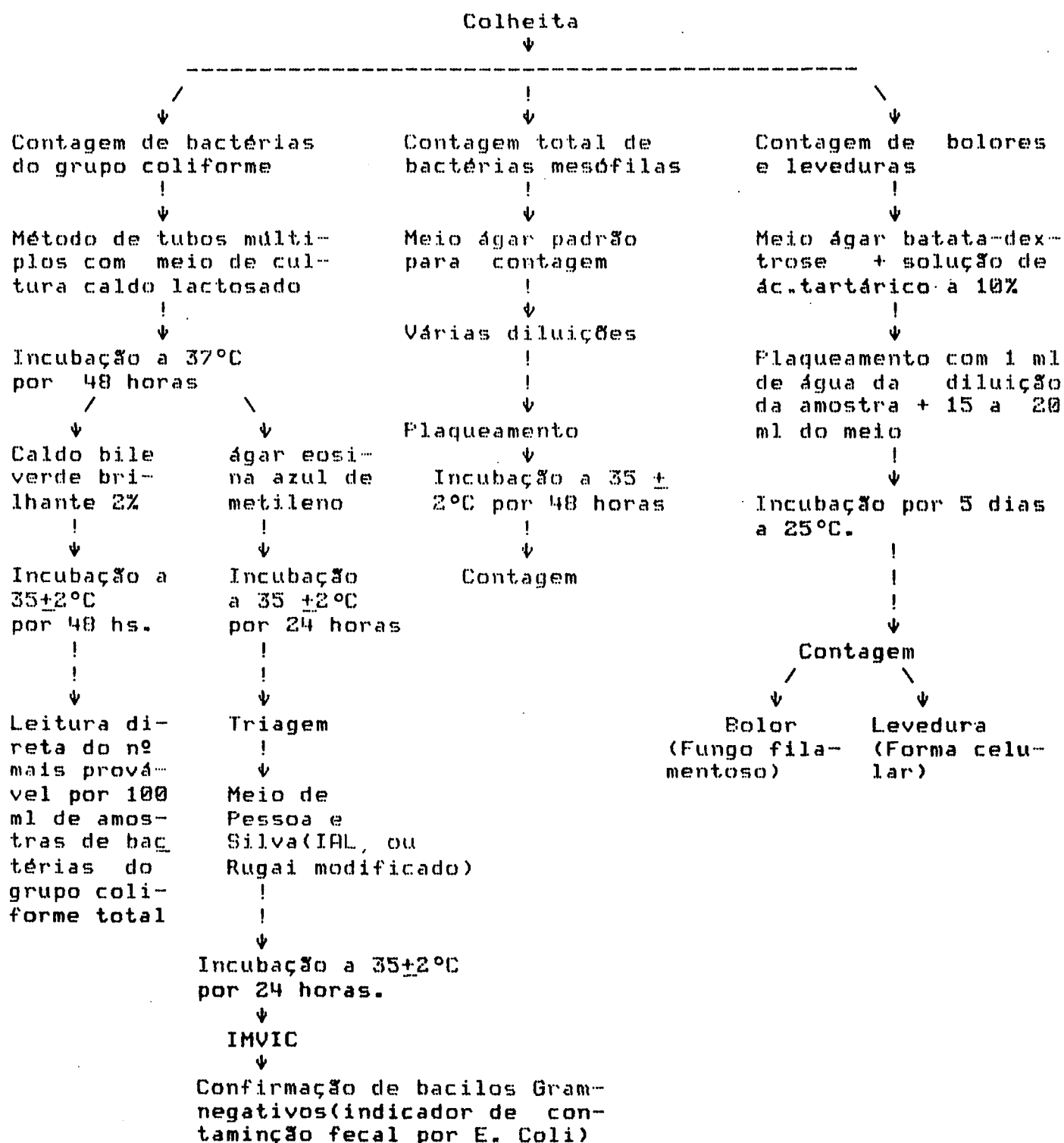
Colheita de água de torneira

Deixou-se escorrer a água durante 5 minutos, fechou-se a torneira, que foi flambada e aberta novamente. Deixou-se escorrer a água por mais 2 minutos. O frasco esterilizado foi destampado com todos os cuidados de anti-sepsia, enchido com água até 3/4 de sua capacidade e fechado novamente.

Nas culturas da água pesquisou-se a contagem de bactérias do grupo coliforme total (CCT), contagem de bactérias do grupo coliforme fecal (CCF), contagem total de bactérias mesófilas (CTBM) e contagem total de bolores e leveduras (CTBL). (FIGURA III).

A técnica laboratorial das culturas de água seguiu a orientação da Associação Americana de Saúde Pública, Associação Americana dos Trabalhadores de Água e Federação de Controle de Poluição da Água (7).

FIGURA III - Esquema da técnica utilizada nas culturas da água colhidas das torneiras dos lavabos do centro cirúrgico.



RESULTADOS

Para a análise dos resultados, foram avaliadas separadamente as culturas do grupo I (diversos locais do centro cirúrgico) e do grupo II (água das torneiras).

1. Culturas do grupo I (diversos locais do centro cirúrgico).

Os resultados das culturas desse grupo foram subdivididos em culturas bacteriológicas e culturas micológicas.

1.1 Culturas bacteriológicas

1.1.1 Piso das salas de cirurgias.

Nas 10 amostras colhidas do piso das salas de cirurgias, ocorreu o crescimento de bactérias em 9 casos (90,0%), sendo encontrado o Staphylococcus epidermidis em 5 amostras (50,0%) e o Staphylococcus saprophyticus nas outras 4 amostras (40,0%). O número de colônias por amostra variou de 3 a 31 para o Staphylococcus epidermidis com a média de 17,2. Para o Staphylococcus saprophyticus, o número de colônias variou de 2 a 58 por amostra, com a média de 17,5. Todas as cepas encontradas foram resistentes à penicilina (100,0%) .(Tabela 1).

Tabela 1: - Culturas bacteriológicas positivas das amostras obtidas do piso das salas de cirurgias.

nº. da amostra	bactéria	nº. col.	res. pen.
2	<u>Staphylococcus epidermidis</u>	5	R
3	<u>Staphylococcus epidermidis</u>	31	R
4	<u>Staphylococcus saprophyticus</u>	7	R
5	<u>Staphylococcus saprophyticus</u>	58	R
6	<u>Staphylococcus saprophyticus</u>	2	R
7	<u>Staphylococcus epidermidis</u>	22	R
8	<u>Staphylococcus epidermidis</u>	25	R
9	<u>Staphylococcus epidermidis</u>	3	R
10	<u>Staphylococcus saprophyticus</u>	3	R.

nº.col= número de colônias res.pen.= resistência à penicilina

1.1.2 Torneiras dos lavabos.

Nas 10 culturas colhidas das torneiras dos lavabos, houve crescimento de bactérias em 3 casos (30,0%) e o germe isolado foi o Staphylococcus saprophyticus em todas as culturas positivas. O número de colônias foi de 1 ou 2 por amostra, sendo o germe sensível à penicilina em 1 caso (33,3% das amostras positivas) e resistente a esse antibiótico nos outros 2 casos (66,7%). (Tabela 2)

Tabela 2 - Culturas bacteriológicas positivas das amostras obtidas das torneiras dos lavabos do centro cirúrgico.

nº.da amostra	bactéria	nº.col.	res. pen.
3	<u>Staphylococcus saprophyticus</u>	1	S
6	<u>Staphylococcus saprophyticus</u>	2	R
10	<u>Staphylococcus saprophyticus</u>	2	R

nº.col=número de colônias res. pen.=resistência à penicilina

1.1.3 Laringoscópios.

Entre as 10 amostras colhidas das lâminas dos laringoscópios limpos e prontos para uso, 6 (60,0%) apresentaram crescimento de germes, sendo encontrado Pseudomonas stutzerii em 1 caso (10,0%), com o número de colônias superior a 500, concomitantemente com Staphylococcus saprophyticus. Proteus mirabilis foi encontrado em 1 caso (10,0%), com o desenvolvimento de 3 colônias, simultaneamente com Staphylococcus epidermidis. O Staphylococcus saprophyticus cresceu em 4 amostras (40,0%) com o número de colônias sendo de 3 em uma amostra, 250 em uma amostra e superior a 500 em duas amostras. O Staphylococcus epidermidis cresceu em 2 amostras (20,0%), com 80 colônias em uma e com contagem superior a 500 colônias em outra. Todas as cepas de Staphylococcus sp. colhidas nesse local foram resistentes à penicilina (100,0%). (Tabela 3).

Tabela 3 - Culturas bacteriológicas positivas das amostras obtidas dos laringoscópios do centro cirúrgico.

nº. da amostra	bactéria	nº. col.	res. pen.
1	<u>Pseudomonas stutzerii</u>	> 500	-
1	<u>Staphylococcus saprophyticus</u>	> 500	R
3	<u>Staphylococcus saprophyticus</u>	3	R
4	<u>Staphylococcus saprophyticus</u>	> 500	R
5	<u>Staphylococcus saprophyticus</u>	250	R
7	<u>Staphylococcus epidermidis</u>	88	R
10	<u>Staphylococcus epidermidis</u>	> 500	R
10	<u>Proteus mirabilis</u>	3	-

nº.col.= número de colônias res.pen.= resistência à penicilina

1.1.4 Sondas endotraqueais.

Nas 10 amostras colhidas de sondas endotraqueais limpas e prontas para uso, o crescimento de microorganismos foi observado em 6 casos (60,0%). O Staphylococcus epidermidis foi isolado em 3 amostras (30,0%) e o Staphylococcus saprophyticus nas outras 3 (30,0%). O número de colônias variou de 1 até contagem superior a 500 e apenas 2 cepas (33,3% das amostras positivas), ambas de Staphylococcus epidermidis foram sensíveis à penicilina. As outras 4 cepas (66,7%) foram resistentes a esse antibiótico. (Tabela 4).

Tabela 4 - Culturas bacteriológicas positivas das amostras obtidas das sondas endotraqueais do centro cirúrgico.

nº.da amostra	bactéria	nº.col.	res. pen.
3	<u>Staphylococcus epidermidis</u>	2	S
4	<u>Staphylococcus saprophyticus</u>	1	R
5	<u>Staphylococcus epidermidis</u>	3	R
6	<u>Staphylococcus epidermidis</u>	300	S
9	<u>Staphylococcus saprophyticus</u>	> 500	R
10	<u>Staphylococcus saprophyticus</u>	3	R

nº.col.= número de colônias res.pen.= resistência à penicilina

1.1.5 Tubos dos respiradores.

Quatro (40,0%) das 10 amostras colhidas dos tubos dos respiradores apresentaram crescimento de germes, sendo isolado o Staphylococcus epidermidis em 2 amostras (20,0%) e o Staphylococcus saprophyticus nas outras 2 (20,0%). O número de colônias variou de 2 até uma contagem superior a 500. Destas, uma cepa (25,0% das amostras positivas) foi sensível à penicilina e as outras 3 (75,0%) foram resistentes a esse antibiótico. (Tabela 5).

Tabela 5 - Culturas bacteriológicas positivas das amostras obtidas dos tubos dos respiradores do centro cirúrgico.

nº.da amostra	bactéria	nº.col.	res. pen.
2	<u>Staphylococcus saprophyticus</u>	> 500	S
2	<u>Staphylococcus epidermidis</u>	2	R
8	<u>Staphylococcus saprophyticus</u>	2	R
10	<u>Staphylococcus epidermidis</u>	2	R

nº.col.= número de colônias res.pen.= resistência à penicilina

1.1.6 Fios de sutura.

Não houve crescimento de germes em nenhuma das 10 amostras colhidas dos fios de sutura de ácido poliglicólico número 00.

1.1.7 Luvas cirúrgicas estéreis.

Não houve crescimento de germes entre as 10 amostras colhidas de luvas cirúrgicas estéreis obtidas de pacote selado e prontas para uso.

1.1.8 Bacias com anti-séptico álcool iodado.

O crescimento de bactérias ocorreu em 3 (30,0%) das 10 amostras colhidas da porção interna das bacias contendo álcool iodado, utilizado na anti-sepsia das mãos e ante-braços da equipe cirúrgica. Nos 3 casos, o germe isolado foi o Staphylococcus epidermidis e o número de colônias variou de 1 a 3 por amostra. Destas, uma cepa (33,3% das amostras positivas)

foi sensível à penicilina e as outras 2 (66,7%) mostraram-se resistentes a esse antibiótico. (Tabela 6).

Tabela 6 - Culturas bacteriológicas positivas das amostras obtidas das bacias com o anti-séptico álcool iodado.

nº.da amostra	bactéria	nº.col.	res.pen.
4	<u>Staphylococcus epidermidis</u>	1	S
5	<u>Staphylococcus epidermidis</u>	3	R
6	<u>Staphylococcus epidermidis</u>	3	R

nº.col.= número de colônias res.pen.= resistência à penicilina

1.1.9 Campos cirúrgicos estéreis.

Das 10 amostras colhidas de campos cirúrgicos esterilizados em autoclave, 2 (20,0%) apresentaram crescimento de microorganismos. Em 1 caso (10,0%) o germe isolado foi o Staphylococcus epidermidis e a contagem de colônias foi de 17, todas sensíveis à penicilina. No segundo caso (10,0%), o germe encontrado foi o Staphylococcus saprophyticus, com uma contagem superior a 500 colônias resistentes à penicilina. É conveniente salientar que esta amostra foi colhida de um campo cirúrgico que apresentava remendos e sinais de lavagem inadequada (manchas). (Tabela 7).

Tabela 7 - Culturas bacteriológicas positivas das amostras obtidas dos campos cirúrgicos estéreis.

nº.da amostra	bactéria	nº.col.	res.pen.
4	<u>Staphylococcus epidermidis</u>	17	S
7	<u>Staphylococcus saprophyticus</u>	> 500	R

nº.col.= número de colônias res.pen.= resistência à penicilina

1.1.10 Colchões das mesas cirúrgicas.

Observamos o crescimento de germes em 100,0% das amostras colhidas dos colchões das mesas de cirurgia. Destas, 7 amostras (70,0%) revelaram o crescimento de Staphylococcus epidermidis e em 3 amostras (30,0%) houve o crescimento de Staphylococcus saprophyticus. O número de colônias variou de 1 a 216 e em 6 casos (60,0%) o germe foi resistente à penicilina. Nas outras 4 amostras (40,0%), cresceram germes sensíveis a esse antibiótico. (Tabela 8).

Tabela 8 - Culturas bacteriológicas positivas das amostras obtidas dos colchões das mesas de cirurgia.

n .da amostra	bactéria	n .col.	res.pen.
1	<u>Staphylococcus saprophyticus</u>	1	S
2	<u>Staphylococcus epidermidis</u>	10	R
3	<u>Staphylococcus epidermidis</u>	21	R
4	<u>Staphylococcus epidermidis</u>	216	S
5	<u>Staphylococcus saprophyticus</u>	23	S
6	<u>Staphylococcus saprophyticus</u>	2	S
7	<u>Staphylococcus epidermidis</u>	10	R
8	<u>Staphylococcus epidermidis</u>	5	R
9	<u>Staphylococcus epidermidis</u>	49	R
10	<u>Staphylococcus epidermidis</u>	2	R

n . col.= número de colônias res.pen.= resistência à penicilina

No total de 100 culturas realizadas para bactérias, ocorreu crescimento de Staphylococcus sp. em 43 amostras (43,0%), com o número de colônias variando de 1 até acima de 500. Destas 43 colônias positivas, 33 (76,7%) foram resistentes à penicilina e apenas 10 (23,3%) foram sensíveis a esse antibiótico.

Separando-se a incidência quanto à espécie, observamos que das 43 colônias positivas para Staphylococcus sp., 23 (53,5%) foram Staphylococcus epidermidis e 20 (46,5%) foram Staphylococcus saprophyticus. A resistência à penicilina ocorreu em 18 das 23 amostras positivas de Staphylococcus epidermidis (78,3%) e em 15 das 20 amostras positivas de Staphylococcus saprophyticus (75,0%). O índice de sensibilidade à penicilina foi de 21,7% para o Staphylococcus epidermidis e

de 25,0% para o Staphylococcus saprophyticus. A tabela 9 resume os resultados obtidos nas culturas para bactérias do grupo I.

Tabela 9 - Culturas bacterianas positivas de todas as amostras obtidas de diversos locais do centro cirúrgico.

Local	nº. amostras	<u>S.epidermidis</u>		<u>S.saprophyticus</u>		total
		res.pen.	sens.	res.pen.	sens.	
Piso das salas	10	5	0	4	0	9
Torneiras dos lavabos	10	0	0	2	1	3
Laringoscópios	10	2	0	4	0	6
Sondas endotraqueais	10	1	2	3	0	6
Tubos dos respiradores	10	2	0	1	1	4
Fios de ác. poliglicólico	10	0	0	0	0	0
Luvas cir. estéreis	10	0	0	0	0	0
Bacias com álcool iodado	10	2	1	0	0	3
Campos cirúrg. estéreis	10	0	1	1	0	2
Colchões das mesas cir.	10	6	1	0	3	10

res.pen.= resistência à penicilina sens.= sensível à penicilina

1.2 Culturas micológicas

1.2.1 Piso das salas de cirurgias.

Nas 10 amostras colhidas do piso das salas de cirurgias, observou-se o crescimento de fungos em 2 casos (20,0%). Foi identificado fungo filamentoso nas 2 amostras, sendo uma delas o Penicillium sp.. (Tabela 10).

Tabela 10 - Culturas micológicas positivas das amostras obtidas do piso das salas do centro cirúrgico.

nº. da amostra	fungo
1	Fungo filamentoso
9	Fungo filamentoso (<u>Penicillium</u> sp.)

1.2.2 Torneiras dos lavabos.

Entre as 10 amostras colhidas das torneiras dos lavabos, houve o crescimento de fungos em 2 amostras (20,0%), sendo encontrado elementos leveduriformes de morfologia compatível com o gênero Candida sp. em 1 caso e fungo filamentoso do gênero Penicillium sp., também em 1 amostra. (Tabela 11).

Tabela 11 - Culturas micológicas positivas das amostras obtidas das torneiras dos lavabos.

nº. da amostra	fungo
4	Levedura (<u>Candida</u> sp.)
5	Fungo filamentoso (<u>Penicillium</u> sp.)

1.2.3 Laringoscópios.

Observamos o crescimento de fungos em 2 das 10 amostras (20,0%) colhidas dos laringoscópios e a cepa isolada nos 2 casos foi de fungo filamentoso. (Tabela 12).

Tabela 12 - Culturas micológicas positivas das amostras obtidas dos laringoscópios.

nº.da amostra	fungo
5	Fungo filamentoso
7	Fungo filamentoso

1.2.4 Sondas endotraqueais.

Nas 10 amostras colhidas das sondas endotraqueais, 1 (10,0%) apresentou crescimento de fungo filamentoso do gênero Penicillium sp. (amostra 3).

1.2.5 Tubos dos respiradores.

Nas 10 amostras colhidas dos tubos dos respiradores, 2 (20,0%) apresentaram crescimento intenso de fungos, sendo isolado fungo filamentoso em 1 amostra e elementos leveduriformes de morfologia compatível com o gênero Candida sp. em outro. (Tabela 13).

Tabela 13 - Culturas micológicas positivas das amostras obtidas dos tubos dos respiradores.

nº.da amostra	fungo
2	Fungo filamentoso
7	Levedura (<u>Candida</u> sp.)

1.2.6 Fios de sutura de ácido poliglicólico número 00.

Não ocorreu crescimento de fungos nas 10 amostras colhidas dos fios de sutura de ácido poliglicólico número 00.

1.2.7 Luvas cirúrgicas estéreis.

Não houve crescimento de fungos nas 10 amostras colhidas de luvas cirúrgicas estéreis, descartáveis, obtidas de pacotes selados.

1.2.8 Bacias com o anti-séptico álcool iodado.

Não se evidenciou o desenvolvimento de fungos nas 10 amostras colhidas das bacias com álcool iodado, utilizado na anti-sepsia da equipe cirúrgica.

1.2.9 Campos cirúrgicos estéreis.

Não houve crescimento de fungos nas 10 amostras colhidas de campos cirúrgicos estéreis e prontos para uso.

1.2.10 Colchões das mesas cirúrgicas.

Observou-se crescimento de fungo em 1 das 10 amostras colhidas dos colchões das mesas cirúrgicas (10,0%) e a cepa isolada foi de fungo filamentoso. (amostra 8).

No total de 100 culturas realizadas para fungos, ocorreu crescimento em 10 amostras (10,0%), sendo 8 amostras de fungo filamentoso e 2 de leveduras. A tabela 14 resume os resultados obtidos nas culturas para fungos do grupo I.

Tabela 14 - Culturas micológicas positivas de todas as amostras obtidas de diversos locais do centro cirúrgico.

Local	nº amostras	culturas positivas
Piso das salas	10	2
Torneiras dos lavabos	10	2
Laringoscópios	10	2
Sondas endotraqueais	10	1
Tubos dos respiradores	10	2
Fios de ácido poliglicólico	10	0
Luvas cirúrgicas estéreis	10	0
Bacias com álcool iodado	10	0
Campos cirúrgicos estéreis	10	0
Colchões das mesas cirúrgicas	10	1

Considerando que no processo rotineiro de intubação traqueal e assistência ventilatória para procedimentos anestésicos são utilizados seqüencialmente o laringoscópio e a cânula traqueal que é conectada ao tubo do respirador, pode-se, através da análise combinatória pelo princípio fundamental da contagem, determinar, a partir dos índices de colonização bacteriana em cada um desses instrumentos, a possibilidade de contaminação da orofaringe e árvore traqueobrônquica do paciente. A possibilidade de contaminação por germes sensíveis à penicilina é de 7,2% e de 83,2% por bactérias resistentes a esse antibiótico, totalizando 90,4% de possibilidade de contaminação. Repetindo-se o mesmo raciocínio, a possibilidade de contaminação por fungos é de 42,4%, sendo de 7,2% por levedura, 32,4% por fungo filamentoso e 2,8% com a associação de fungo

filamentoso e leveduras. Quando analisados em conjunto, chega-se a um índice de probabilidade de 94,5% de contaminação por bactérias, por fungos, ou ambos.

2. Culturas do grupo II (Culturas de água de torneira).

Nas 5 amostras de água colhidas das torneiras dos lavabos, a contagem de coliformes totais, coliformes fecais e de bactérias mesófilas foi negativa. Todas as culturas para bolores e leveduras foram positivas e a contagem total variou de 2 a 8 colônias por mililitro de água da amostra. (Tabela 15).

Tabela 15 - Resultado de todas as culturas bacteriológicas e micológicas da água de torneira.

Amostra	CCT	CCF	CTBM	CTBL
1	(-)	(-)	(-)	4 col. / ml
2	(-)	(-)	(-)	2 col. / ml
3	(-)	(-)	(-)	5 col. / ml.
4	(-)	(-)	(-)	8 col. / ml
5	(-)	(-)	(-)	6 col. / ml

col.= Colônias.

CCT = Contagem de coliforme total.

CCF = Contagem de bactérias do grupo coliforme fecal.

CTBM= Contagem total de bactérias mesófilas.

CTBL= Contagem total de bolores e leveduras.

DISCUSSÃO

Teoricamente o ambiente ideal para um centro cirúrgico deveria ser totalmente asséptico, o que é impossível na prática, porque o próprio ser humano contém em sua superfície corpórea grandes populações bacterianas (39). Entretanto, o centro cirúrgico mais próximo do ideal é o que contém o menor número possível de germes.

Várias medidas são adotadas para diminuir a contaminação do ambiente cirúrgico, como o uso de sapatilhas ou de tamancos, gorros, máscaras, a substituição do vestuário dos que frequentam esse local, o isolamento das janelas com telas para evitar a entrada de insetos e em alguns casos até o ar ambiente é filtrado e distribuído sob fluxo laminar, entre outras. Estas medidas são associadas ao uso de anti-sépticos químicos e meios físicos para reduzir a população microbiana do meio ambiente e dos equipamentos aí utilizados.

É muito difícil avaliar corretamente a real concorrência das condições ambientais nos índices de infecções pós-cirúrgicas, visto que outros fatores muito importantes devem ser considerados, como por exemplo o estado nutricional do paciente, condições associadas como diabetes, obesidade, idosos, prematuros, o tipo de cirurgia realizada (contaminada ou não), a habilidade do cirurgião e da equipe cirúrgica, os cuidados pré e pós-operatórios, entre outros (25, 29, 30, 35, 44, 54, 80). No entanto, ainda ocorre um pequeno número de complicações infecciosas em pacientes bem nutridos, submetidos a cirurgias limpas, realizadas por cirurgiões experimentados e

tratados com todos os cuidados pré e pós-operatórios.

Outro fator muito importante reside no fato de que o uso indiscriminado de antibióticos, quimioterápicos e anti-sépticos tem contribuído para a seleção de cepas microbianas muito resistentes, principalmente dentro do ambiente hospitalar o que dificulta, sem dúvida, o trabalho daqueles que procuram melhorar as condições de anti-sepsia neste local (2, 4, 6, 8, 15, 36, 48, 58, 65).

Apesar da contaminação pelo ar não constituir uma forma importante de disseminação da infecção, o cuidado inadequado do meio ambiente pode elevar o potencial de contaminação por esta via. (3, 11, 41, 45, 51, 52, 53, 55, 80, 83).

A incidência de infecção pós-operatória tem sido caracterizada como um dos parâmetros mais fidedignos na avaliação da qualidade de um serviço de cirurgia e esta premissa baseia-se em argumentos éticos, técnicos e econômicos. Éticos, pois o paciente pode contrair um mal que poderia ser evitado, trazendo-lhe sofrimentos, custos elevados e risco de vida; técnicos, evidenciados pelo desprezo aos cuidados básicos de profilaxia e confiança exagerada na terapêutica antibiótica; econômicos, pelo aumento dos custos acarretados pela infecção (28, 84).

No presente trabalho foi avaliado o crescimento de bactérias e fungos em vários locais do centro cirúrgico do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná. No primeiro caso estão os microorganismos mais comumente encontrados nas infecções cirúrgicas propriamente ditas e no segundo caso há especial interesse por serem ali realizados transplantes de rins e de medula óssea, assim como a instalação de próteses, marca-passos e catéteres para nutrição parenteral.

Nestas situações, as infecções por fungos adquirem importância inusitada, pois os pacientes são imunodeprimidos ou desnutridos graves e a identificação do agente etiológico é um dado fundamental para o diagnóstico e tratamento das infecções pós-cirúrgicas.

Cabe salientar que os resultados obtidos neste estudo refletem uma situação momentânea dentro da população bacteriana do centro cirúrgico do Hospital das Clínicas da Universidade Federal do Paraná. Recentemente, novas medidas de controle da infecção hospitalar foram introduzidas em nosso meio que possivelmente modificarão esses resultados.

A avaliação foi iniciada pelo local aparentemente mais contaminado da sala de cirurgia: o piso. O crescimento de bactérias em 90% das amostras colhidas desse local não constitui uma cifra exagerada, pois era costume neste hospital o uso das sapatilhas sem retirar os sapatos. Logo, a sapatilha era a única barreira entre a flora microbiana do centro cirúrgico e a flora do restante do hospital ou mesmo da rua. Era um elemento agravante o fato de muitas pessoas circularem com as sapatilhas no corredor de entrada do centro cirúrgico, visto que neste local também haviam pessoas que não faziam uso da roupa de centro cirúrgico e das sapatilhas. Além disso, as macas provenientes dos outros locais do hospital trazendo pacientes, entravam no centro cirúrgico sem sofrer qualquer cuidado de higiene. Logo, podemos deduzir que se torna muito difícil a manutenção das condições ideais aceitas para o piso do centro cirúrgico, apesar dos cuidados de limpeza e desinfecção. Em todas as culturas positivas cresceram Staphylococcus saprophyticus ou Staphylococcus epidermidis. Isso significa que

estes germes constituíam a flora bacteriana mais comum naquele local e embora o número de colônias por amostra não fosse elevado, observamos que estes germes estão se desenvolvendo apesar da desinfecção realizada (71). Nos preocupa sua prevalência pela análise do índice de resistência desses germes à penicilina, que foi de 100%.

A pesquisa micológica nesse local revelou o crescimento de fungo filamentoso em duas amostras, que possivelmente é uma cifra pouco significativa em vista da alta frequência com que se encontra esse fungo na natureza e pelas dificuldades já citadas quanto ao controle e isolamento do piso do centro cirúrgico. A baixa incidência de culturas positivas para fungos sugere que o método de anti-sepsia utilizado é adequado para a profilaxia do desenvolvimento de fungos nesse local.

A importância da flora bacteriana e de fungos do piso da sala de cirurgia não deve ser super-estimada, pois não há contato direto com o ato cirúrgico e seus integrantes. Além disso, o número de colônias bacterianas foi pequeno, não passando de 58 colônias por amostra.

Houve um crescimento menor de bactérias e fungos nas torneiras dos lavabos, com um índice de crescimento de 30% para as bactérias e de 20% para os fungos. Também neste local a flora bacteriana foi composta de Staphylococcus saprophyticus, com um alto índice de resistência à penicilina (66,7%). Porém, o número de colônias foi de apenas 1 ou 2 por amostra positiva, o que sugere contaminação pela própria superfície cutânea das pessoas que se utilizam desse local.

Podemos deduzir que aí não ocorre contaminação bacteriana maciça e que a observação da técnica correta de lavagem das mãos reduz sensivelmente o risco da contaminação por esta

via.

As amostras positivas para fungos evidenciaram a presença de Candida sp. em uma amostra e fungo filamentoso (Penicillium sp.) em outra, revelando que a contaminação é possível se houver algum descuido na anti-sepsia da equipe cirúrgica.

Além disso, a contaminação por Candida sp. pode levar a complicações que variam desde a simples estomatite até à meningite, abscessos e a forma sistêmica da infecção, que é muito grave e de difícil controle clínico. Em pacientes portadores de próteses cardíacas, a infecção por fungos adquire características muito severas, com um elevado índice de mortalidade.

É prudente lembrar a importância dos cuidados de anti-sepsia que antecedem a punção lombar para bloqueios anestésicos, uma vez que a meningite por Candida sp. pode adquirir características clínicas de gravidade.

Por outro lado, as amostras obtidas dos laringoscópios limpos e prontos para uso revelaram um índice de crescimento bacteriano realmente preocupante (60%), pois este equipamento atua diretamente na cavidade oral do paciente, servindo de importante vetor de transmissão de infecções. Neste instrumento, além do Staphylococcus sp, houve ainda o crescimento de Pseudomonas stutzerii e Proteus mirabilis, que podem ser letais em pacientes imunodeprimidos. Não menos preocupante é o índice de resistência das cepas de Staphylococcus sp. à penicilina, que foi de 100% e o número de colônias bastante elevado.

A pesquisa de fungos nos laringoscópios mostrou o crescimento de fungo filamentoso em 2 amostras. Este índice de

contaminação está acima do esperado, embora a cepa não seja virulenta em pacientes com o sistema imunológico competente. Nos imunodeprimidos a situação poderá inverter-se, representando sério risco a esses pacientes.

Estes resultados denotam uma séria deficiência nos cuidados dispensados aos laringoscópios, que após o uso são apenas lavados com sabão ou PVP-I. Está bem claro que estas medidas não são suficientes na manutenção deste importante instrumento. Além disso, é necessário que se observem alguns cuidados no seu uso, como por exemplo não pegar na lâmina e não a deixar em locais inadequados. A literatura registra casos de infecção pelo uso de material de reanimação e intubação contaminados. Recomenda-se a esterilização das lâminas pelo calor seco ou desinfecção por imersão durante 30 minutos em soluções desinfectantes (84).

As amostras colhidas das sondas endotraqueais limpas e prontas para uso também revelaram um crescimento alarmante de germes, o que ocorreu em 60% das amostras. O número de colônias foi elevado em 33,3% das culturas positivas e a resistência à penicilina foi expressiva, com um índice de 66,6%. Isto significa que a cada 10 pacientes submetidos a intubação traqueal, 6 poderão ter germes semeados em sua mucosa traqueal e destes, 4 serão resistentes à penicilina. Possivelmente, alguns desses pacientes desenvolverão infecção no sistema respiratório como complicação pós-operatória, elevando os índices de infecção hospitalar.

O crescimento de fungo filamentoso ocorreu em apenas uma amostra, embora a contaminação ocorra dentro do trato respiratório.

Pode-se constatar com esses resultados que a lavagem

habitual das sondas traqueais e a desinfecção como foi descrita anteriormente, não constitui uma forma efetivamente boa de preparo desse importante instrumento, assim como é inadequada a sua forma de utilização.

Ainda em relação aos cuidados com assistência ventilatória do paciente submetido a uma anestesia e a uma cirurgia, constatamos que a tubulação utilizada na condução dos gases anestésicos, desde o respirador artificial até a cânula traqueal, também exibiu um índice de colonização bacteriana em seu interior bastante elevado, com positividade para o Staphylococcus epidermidis e o Staphylococcus saprophyticus em 40% das amostras. Destas 4 amostras positivas, 3 (75%) apresentaram cepas resistentes à penicilina.

O crescimento de fungo filamentoso e Candida sp. em 20% das amostras colhidas dos tubos dos respiradores, também reflete a deficiência nos cuidados de manutenção da anti-sepsia nestes equipamentos.

Este achado sugere que esta tubulação, utilizada durante os procedimentos anestésicos, deva receber alguns cuidados específicos adicionais, pois pode contribuir de forma efetiva na semeadura de germes no trato respiratório do paciente. Segundo Zanon (84), os componentes do circuito inalatório como ambús, máscaras, válvulas e a tubulação de gases, apresentam maior risco de transmissão de infecções respiratórias, exigindo desinfecção entre aplicações sucessivas em diferentes pacientes. Sugere ainda o uso de material resistente ao calor para receber esterilização em autoclave. Os respiradores só deverão ser esterilizados quando usados em pacientes com doenças respiratórias causadas por patógenos primários. Este pro-

cesso de desinfecção não estava sendo realizado de rotina no Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, no período deste estudo.

Através da análise combinatória pelo princípio fundamental da contagem entre os índices de colonização bacteriana nos laringoscópios, sondas traqueais e na tubulação dos respiradores, obtém-se uma porcentagem de possível contaminação da orofaringe e árvore traqueo-brônquica de 7,2% por germes sensíveis à penicilina e 83,2% por germes resistentes a esse antibiótico. Logo, a contaminação bacteriana pode ocorrer em até 90,4% dos pacientes submetidos a intubação endotraqueal e assistência ventilatória com respiradores durante os procedimentos anestésicos no centro cirúrgico do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná. É um índice elevado, principalmente considerando-se o tipo de paciente (desnutrido) mais comum nesse hospital.

Repetindo-se a análise combinatória dos índices de contaminação por fungos nos laringoscópios, cânulas traqueais e tubulação dos respiradores, constata-se que a possibilidade de contaminação por fungos na orofaringe e árvore traqueo-brônquica dos pacientes submetidos a intubação traqueal e manutenção ventilatória, durante os procedimento anestésicos, é de até 32,4% por fungo filamentoso, de 7,2% por levedura e de 2,8% por fungo filamentoso mais levedura. Logo, a possibilidade de contaminação por fungos é de 42,4%.

Considerando que o mesmo paciente tenha 90,4% de chances de contaminação por bactérias e de 42,4% de chances de contaminação por fungos durante um procedimento de intubação e assistência ventilatória, pode-se determinar que a possibilidade total de contaminação por bactérias e/ou fungos durante

este procedimento seja de 94,5%. Estes índices são extremamente preocupantes, especialmente para aqueles pacientes imunodeprimidos, que serão submetidos a transplantes.

Na análise do material descartável obtido de pacotes selados, não ocorreu crescimento de bactérias ou fungos em nenhuma das amostras, o que reflete a boa qualidade do método de esterilização, empregado no preparo dos fios de sutura de ácido poliglicólico número "00" e das luvas cirúrgicas.

Tem-se combatido o uso da bacia com álcool iodado por vários motivos, sendo o principal deles o fato de que ocorre a evaporação do álcool, restando apenas uma solução de água com iodo. Além disso, o uso repetido da mesma solução permite que ocorra uma alta concentração de germes e resíduos, além da diluição pela água que vem das mãos e antebraços da equipe cirúrgica, o que compromete a sua ação anti-séptica(45). Finalmente, métodos mais práticos tão ou mais eficazes estão disponíveis atualmente (16).

Nosso estudo revelou a presença de bactérias em 30% das amostras colhidas das bacias com anti-séptico álcool iodado, o que corrobora as afirmativas anteriores. Embora o número de colônias seja pequeno em cada amostra, precisamos valorizar este dado, pois a contaminação ocorrerá nas mãos e antebraços dos elementos da equipe cirúrgica, que darão ao germe acesso direto à ferida operatória em 5 a 12% das vezes, pois este é o índice de perfuração do total de luvas (84). Cole (19), demonstrou que até 18.960 Staphylococcus sp. podem passar através de um único furo de agulha em um dedo de luva num período de 20 minutos. Em nosso estudo, o Staphylococcus epidermidis foi o germe encontrado em todas as amostras e o índice de resistência à penicilina foi de 66.7%. Vale a pena

lembrar que o alto índice de crescimento de germes nas bacias contendo álcool iodado deve-se, em parte, à baixa concentração de iodo ativo daquela solução (0,6 %), que é inferior a 1% de iodo ativo, que é a concentração germicida mínima de iodo em 10 minutos de exposição (78, 81, 82).

Embora as culturas para fungos tenham sido negativas, dados da literatura e os nossos achados sugerem que esse método de anti-sepsia deva ser substituído por recipientes fechados, semelhantes aos utilizados para outros degermantes.

O uso de anti-sépticos como o PVP-I a 10%, clorohexidina a 4%, ou hexaclorofeno a 3% dispensam o uso das soluções alcóolicas de iodo após a lavagem das mãos (16).

O estudo das amostras colhidas de campos cirúrgicos estéreis apresentou um surpreendente crescimento de bactérias em 20% dos casos, sendo o Staphylococcus epidermidis e o Staphylococcus saprophyticus as cepas encontradas. O número de colônias em um dos casos foi bastante elevado (superior a 500 colônias) e o índice de resistência à penicilina foi de 50%.

Este achado reveste-se de grande importância, pois trata-se de uma fonte de contaminação diretamente colocada no campo operatório. Isto reflete falha grave no cuidado com o material reaproveitável, desde a sua lavagem até a esterilização no autoclave. É provável que os demais campos daquele conjunto também estivessem contaminados e esta falha no processo de esterilização possa estender-se a outros equipamentos como pinças, material de corte e síntese, compressas e gases, comprometendo seriamente o sucesso do ato cirúrgico.

Cabe lembrar que a esterilização em autoclave reduz o número de germes em 1 milhão de vezes (33, 84). Logo, secre-

ções purulentas ou fecais que contêm até 10 trilhões de bactérias por ml deverão receber uma cuidadosa lavagem prévia, com a remoção de grande parte dessa substância orgânica, sob o risco do processo de esterilização não atingir seu objetivo (15).

O maior índice de crescimento de bactérias ocorreu entre as amostras dos colchões das mesas cirúrgicas (100%). O germe mais comum foi o Staphylococcus epidermidis em 70% das vezes, seguido do Staphylococcus saprophyticus nos outros 30%. O número de colônias variou de 1 a 216 por amostra, com um índice de resistência à penicilina de 60%. Este resultado era esperado, pois o colchão da mesa cirúrgica fica em contato com a pele do paciente, cuja flora habitual é composta por esses germes. Houve também o crescimento de fungo filamentoso em uma única amostra dos colchões. A anti-sepsia dos colchões não era feita de rotina. Possivelmente este achado não aumenta a incidência de infecção operatória e a proteção com campos indiretos estéreis confere uma condição segura para a realização do ato cirúrgico. Deve-se no entanto permanecer atento pois, no caso de haver umidade dos campos por secreções, sangue e outras soluções, pode ocorrer a passagem de germes do colchão para o campo operatório. Alguns autores recomendam a prática do banho completo do paciente com anti-séptico do tipo PVP-I antes do ato cirúrgico com o objetivo de reduzir a população bacteriana na superfície corpórea do mesmo (33, 37, 78, 84). Cuidado adicional deverá ser dado aos procedimentos cirúrgicos das extremidades dos membros, que permanecem a poucos centímetros da superfície do colchão da mesa.

O índice geral de 43% de crescimento de bactérias e o índice de resistência de 76,74% à penicilina, observados em nosso estudo, são mais elevados do que os observados na literatura.

tura e cuidados adicionais devem ser tomados. Este elevado índice pode estar associado a altas taxas de contaminação durante o ato cirúrgico.

O germe mais comum foi o Staphylococcus sp., sem diferença significativa entre as espécies Staphylococcus epidermidis e Staphylococcus saprophuticus. Em ambas as espécies, o índice de resistência à penicilina foi superior a 75%, o que reflete uma flora bacteriana local bastante selecionada.

É importante salientar que, havendo a presença de bactérias, a infecção está na dependência da virulência do germe, da resistência do hospedeiro e dos cuidados pré e pós-operatórios.

Como a maioria dos pacientes operados no Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná são de classes menos favorecidas e muitas vezes apresentam comprometimento severo do estado nutricional que, conseqüentemente, reduz a resistência imunológica do hospedeiro e a flora encontrada mostrou-se exuberante e bastante resistente ao uso da penicilina é pois, importante enfatizar a necessidade dos cuidados de anti-sepsia.

Cabe lembrar que a profilaxia da infecção é muito mais econômica que os custos de tratamento e portanto deve merecer especial atenção dos responsáveis administrativos e de toda a classe médica e para-médica. A pesquisa laboratorial de cada paciente com infecção acarreta um custo 2,6 vezes menor do que aquele onde o tratamento é orientado de forma empírica (76).

As culturas do grupo II, colhidas das torneiras dos lavabos, revelaram que a água proveniente da rede pública, armazenada e distribuída pelo sistema hidráulico do Hospital de

Clínicas da Universidade Federal do Paraná, é de boa qualidade, não podendo ser responsabilizada pela contaminação bacteriana do ambiente ou dos equipamentos do centro cirúrgico.

Embora a contagem de bolores e leveduras não entre no conceito de potabilidade da água, a presença desse germe em todas as culturas de água reflete a necessidade de cuidados adicionais em seu uso.

Quando utilizada na anti-sepsia dos elementos da equipe cirúrgica ou da pele do paciente, representa um meio de possível contaminação, assim como dos objetos que não sofrem outros tipos de anti-sepsia.

Todas as bactérias e fungos isolados neste estudo podem se tornar patogênicas em condições próprias, como nos pacientes imunodeprimidos, desnutridos, portadores de próteses, diabéticos, obesos, prematuros, entre outros.

Aber (1) discute os vários critérios utilizados nos diferentes sistemas mais freqüentemente empregados para se estabelecer a identidade genética e biológica dos microorganismos nosocomiais. Reafirma o grande valor da pesquisa epidemiológica (38, 47, 67, 79), assim como a necessidade da padronização das técnicas laboratoriais, a fim de estabelecer com precisão as limitações do método e facilitar a interpretação dos resultados.

Considerando que ainda não existe um método ideal para a determinação dos principais agentes microbiológicos ligados à infecção nosocomial, pode-se admitir que a identificação do tipo da flora local e sua susceptibilidade constituem um método válido como início da investigação. O refinamento das técnicas laboratoriais tem incrementado a precisão dos métodos de investigação microbiológicas que, associadas à pesquisa

epidemiológica, facilitam o controle da infecção hospitalar.

Armellini (8) analisa a alteração radical no padrão de germes causadores de infecção hospitalar, que, até a metade dos anos 60, era relacionada ao meio ambiente e a literatura assinalava a predominância do Staphylococcus aureus como principal responsável por estas infecções. Desde então, os germes Gram-negativos vêm crescendo em importância como agentes causadores da infecção hospitalar. Possivelmente esta mudança na flora microbiana reflete a melhoria dos cuidados ambientais, evidenciando como principal causa de contaminação os germes encontrados nas secreções humanas. Logo, a contaminação está intimamente relacionada à deficiência de higiene no contato direto de pessoa a pessoa (24). Correlaciona ainda as infecções hospitalares ao germe causador, observando ser o Staphylococcus epidermidis o responsável por 3,6% e a Candida sp. por 2,4% das infecções. Zanon (84) isolou o Staphylococcus epidermidis em 5,36% das infecções nosocomiais. Armellini (8) cultivou secreções das feridas cirúrgicas no Hospital de Ipanema e observou que 28% das infecções eram causadas por Escherichia coli, 27,5% por Staphylococcus aureus, 12,5% por Klebsiella pneumoniae, 9,5% por Proteus mirabilis, 8,0% por Pseudomonas aeruginosa, 4,5% por Citrobacter freundii, 2,5% por Enterobacter cloacae e 7,5% por outros germes. Estes resultados corroboram sua afirmativa anterior quanto à importância do ambiente cirúrgico na infecção da ferida operatória.

Nos pacientes com alteração no mecanismo de defesa humoral ou celular, as bactérias mais frequentemente associadas à infecção são os cocos Gram-negativos e entre os fungos o mais comumente encontrado é a Candida sp. (40, 62). Armellini (8),

enumera ainda as medidas de controle da infecção hospitalar e enfatiza, entre outros aspectos, o exame bacteriológico periódico de rotina do ambiente hospitalar quando houver um problema epidemiológico específico em curso, para o estudo de equipamento utilizado em pacientes infectados, ou com alto risco de infecção e no controle de técnicas de desinfecção, anti-sepsia e assepsia (8, 33, 57).

Aguiar (3), analisando a importância do número de microorganismos na ferida cirúrgica, cita os estudos de Eleck em 1950 onde ele demonstrou que apenas 7.500 Staphylococcus sp. poderiam desenvolver infecção na pele suturada. Conclui que o número máximo de microorganismos que os tecidos do hospedeiro conseguem controlar está entre 100 mil e 1 milhão por unidade de área, volume ou de peso. Deve-se considerar ainda a sensibilidade do germe, o porte da agressão cirúrgica e as condições gerais do hospedeiro, pois, nos pacientes desnutridos, idosos, diabéticos, obesos ou imunodeprimidos a infecção poderá ocorrer com populações bacterianas muito menores. Elek (26) em 1957, analisando a concorrência de corpo estranho no aumento da incidência da infecção de parede abdominal, demonstrou que apenas 100 microorganismos poderiam desenvolver infecção se fossem injetados em área de sutura com fio de seda no subcutâneo. Logo, a presença de corpo estranho reduziu em 10.000 vezes a resistência local. A redução da resistência local poderá ser ainda maior quando o tecido estiver incluído dentro da ligadura. Além disso, a melhor compreensão dos fatores responsáveis por maiores alterações na resistência do hospedeiro é de primordial importância na prevenção da infecção (22, 26, 64).

A ubiquidade do Staphylococcus sp. torna impossível a sua eliminação do ambiente hospitalar (17). Esta afirmativa de Cohen (17) em 1964 foi plenamente corroborada em nosso estudo, mostrando que todos os avanços experimentados nos últimos anos, no campo da infecção hospitalar, foram insuficientes para determinar um progresso expressivo no controle desse germe a nível nosocomial. Explica-se este fato por ser o próprio homem o principal reservatório do Staphylococcus sp. e a eliminação desse germe da flora humana provavelmente jamais ocorrerá de maneira satisfatória. Logo, é improvável que se consiga erradicar este microorganismo do ambiente hospitalar, ou que se reduzam radicalmente os índices de infecção pós-cirúrgica, visto que na maioria das vezes a contaminação, ocorre por germes da flora bacteriana normal da pele do paciente ou dos elementos da equipe médica e para-médica (40, 83).

Cruse (22) analisa detalhadamente os fatores mais freqüentemente envolvidos na infecção da parede abdominal, assim como os germes mais freqüentemente nela envolvidos. Entre as bactérias, o Staphylococcus aureus é o mais comum e o Staphylococcus epidermidis vem aumentando sua implicação nessas infecções, especialmente nos pacientes com próteses. Também os germes Gram-negativos têm sido encontrados com maior freqüência, especialmente nas cirurgias com abertura de alças intestinais. Entre os fungos, o Actinomyces sp., Candida sp., Blastomyces sp., Sporotrichum sp., Mucor sp., Aspergillus sp., Fusarium sp., Paracoccidioides sp. e a Nocardia sp. são os mais freqüentemente associados às infecções de parede abdominal.

Cunha (23), analisando as medidas preventivas e o tratamento das infecções cirúrgicas, discute o risco, os tipos, os principais fatores predisponentes e a incidência das infec-

ções pós-cirúrgicas. O Staphylococcus sp. foi o germe mais frequentemente responsabilizado pelas infecções exógenas.

Finalizando, lembramos das palavras do professor Alfredo Monteiro, que, em 1936, afirmava: "A profilaxia da infecção cirúrgica repousa fundamentalmente nos métodos de assepsia e anti-sepsia, de modo a evitar a contaminação da ferida cirúrgica" (3). Este conceito permanece atual, revelando a necessidade dos cuidados técnicos e da pesquisa constante para o controle da infecção (31, 8).

CONCLUSÕES

1. A população bacteriana no centro cirúrgico do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná é predominantemente composta por Staphylococcus epidermidis e Staphylococcus saprophyticus, altamente resistentes à penicilina.
2. O método utilizado no controle da flora microbiana do ambiente cirúrgico não foi efetivo contra o Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus saprophyticus e fungos.
3. As torneiras dos lavabos não eram importantes reservatórios de bactérias e fungos.
4. Os cuidados dispensados aos laringoscópios, cânulas endotraqueais e tubos dos respiradores eram inadequados, requerendo reavaliação criteriosa. Naquelas condições, as possibilidades de contaminação por bactérias e fungos da orofaringe e da árvore traqueobronquial dos pacientes submetidos à intubação endotraqueal poderiam ser de até 94,5%.
5. O processo de esterilização empregado nos fios de sutura de ácido poliglicólico e nas luvas cirúrgicas era eficaz contra o desenvolvimento de bactérias e fungos.
6. As bacias com o anti-séptico álcool iodado permitiram o desenvolvimento de bactérias, requerendo reavaliação criteriosa quanto ao seu uso.
7. O método de limpeza e esterilização dos campos cirúrgicos demonstrou ser ineficiente nesta amostra.
8. Os colchões das mesas cirúrgicas eram importantes reservatórios de bactérias (100,0% de contaminação).

9. A água pode ser uma fonte de contaminação por fungos.

10. No período de 29/09/86 a 10/02/87, o centro cirúrgico do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná apresentou crescimento expressivo de bactérias e fungos em vários locais e instrumentos, que poderiam ser fontes de infecção pós-operatória em alguns pacientes.

SUMMARY

To determine the prevailing germ population in the operating room at the Clinical Hospital of the Federal University of Parana, 100 bacterial cultures and 100 fungus cultures were performed from various locations and equipments of the operating room. In addition, it was done bacterial and fungus cultures from five samples of water obtained from basin faucets connected to the public water supply. Bacteria growth occurred in 9 samples (90,0%) obtained from floor of the rooms, 3 samples (30,0%) obtained from the basin faucets, 6 samples (60,0%) obtained from the laryngoscopes, 6 samples (60,0%) obtained from endotraqueal tubes, 4 samples (40,0%) obtained from respirator tubes, 3 samples (30,0%) obtained from basin with iodine alcohol, 2 samples (20,0%) obtained from surgical drapes and 10 samples (100,0%) obtained from the surgical table mattresses. The bacteria most frequently isolated were Staphylococcus epidermidis (53,5%) and Staphylococcus saprophyticus (46,5%). The penicillin resistance index was 76,7%. Gram-negative bacteria were present in 2 samples (20,0%) obtained from the laryngoscopes. Development of fungus occurred in 2 samples (20,0%) obtained from the floor of the operating rooms, 2 samples (20,0%) obtained from the basin faucets, 2 samples (20,0%) obtained from the laryngoscopes, 1 sample (10,0%) obtained from the endotraqueal tubes, 2 samples (20,0%) obtained from respirator tubes and 1 sample (10,0%) obtained from mattresses. The fungus most frequently isolated were filament fungus (80,0%) and yeast (20,0%). There was no bacterial or fungus growth in the samples collected from polyglycolic acid suture and in sterile surgical gloves obtained from sealed packages. There was no fungus growth in the samples collected from basins with iodine alcohol and surgical drapes. There was no bacterial growth in the water samples. However, fungus growth occurred in 100,0% of the water samples, varying from 2 to 8 colonies per milliliter. It is concluded that the microbial population in the operating room was predominantly composed of Staphylococcus epidermidis and Staphylococcus saprophyticus, which were highly resistant to penicillin. The methods employed to control germ growth in the operating room were not effective against Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus saprophyticus and fungus. The basin faucets were not important reservoirs of bacteria and fungus. The methods employed to clean the laryngoscopes, traqueal tubes, and respirators tubes were inadequate, requiring a critical reevaluation. In those conditions, the possibility of bacterial and fungus contamination of the oropharynx and tracheobronchial tree could be as high as 94,5%. The sterilization method used in suture threads and sterile surgical gloves were effective against bacteria and fungus. There was bacteria growth in the basins with alcohol iodine antiseptic. The method of cleaning and sterilization of the surgical drapes was not effective in the samples evaluated. The mattresses were important reservoirs of bacteria. The water may be a source of fungus contamination. It is concluded from this study that in the period of 09/29/86 through 02/10/87 the

operating room of the Clinical Hospital of the Federal University of Parana presented expressive bacterial and fungus growth in several locations and equipments that could be a source of infection in the postoperative period in some patients.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABER, R. C. & MACKEL, D. C. Epidemiologic typing of nosocomial microorganisms. Am. J. Med., 70:899-905, 1981.
2. AGUIAR, N. et. al. A repercussão do controle de antimicrobianos em alguns indicadores hospitalares. Rev. Paul. Hosp., 24:207-12, 1976.
3. AGUIAR, N. Infecções cirúrgicas. In: NEVES, J. Diagnóstico e tratamento das doenças infectuosas e parasitárias. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1978. p.886-96.
4. ALTEMEIER, W. A. & ALEXANDER, J.W. As infecções. In: DAVIS, L. Clínica Cirúrgica. 2.ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1970. p. 33-50.
5. ALTEMEIER, W. A. et. al. Manual on control of infection in surgical patients. Philadelphia, J. B. Lippincott, 1978.
6. AMERICAN HOSPITAL ASSOCIATION. Controle de infecções no hospital. 3.ed. São Paulo, Sociedade Beneficiente São Camilo, 1976. 203 p.
7. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION; AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION; WATER POLLUTION CONTROL FEDERATION. Standard methods for the examination of water and wastewater. 14 ed. Washington, D. C., 1976. 1.193 p.
8. ARMELINI, F. A. & SEGRE, C. A. M. Infecções hospitalares. Fed. Mod., 19:457-84, 1984.

9. BARRY, A. L. et. al. Methods of measuring zones of inhibition with the Bauer-Kirby disk susceptibility test. J. Clin. Microbiol., 10:885-9, 1979.
10. BAUER, A. W.; KIRBY, W. M. M.; SHERRIS, J. C.; TURCK, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized disc method. Am. J. Clin. Pathol., 45:493-6, 1966.
11. BERNARD, H. R. & COLE, W. R. Bacterial air contamination and its relation to postoperative sepsis. Ann. Surg., 156:12-8, 23, 1962.
12. BIER, O. Bacteriologia geral; resumo histórico. In: BIER, O. Bacteriologia e imunologia. 2.ed. São Paulo, Melhoramentos, 1945.
13. BIER, O. Bacteriologia e imunologia. 19. ed., São Paulo, Melhoramentos, 1978. 1062 p.
14. BORNSIDE, G. H.; CROWDER JR., V. H.; COHN JR., I.. A bacteriological evaluation of surgical scrubbing with disposable iodophor-soap impregnated polyurethane scrub sponges. Surg., 64:743-51, 1968.
15. BRASIL. Ministério da Saúde. Manual de controle de infecção hospitalar. Brasília, Centro de Documentação do Ministério da Saúde, 1985. 123 p. (série A: normas e manuais técnicos, 16).
16. COELHO, J. C. U. et. al. Avaliação de anti-sépticos empregados na degermação pré-operatória das mãos. E. Med., 86:251-4, 1983.
17. COHEN, L. S.; FEKETY JR., F. R.; CLUFF, L. E. Studies of the epidemiology of Staphylococcal infection. VI. Infections in the surgical patient. Ann. Surg., 159:321-34, 1964.

- 18.COHN JR., I. & BORNSIDE, G. H. Infecções. In: SCHWARTZ, S. I. et. al. Principios de cirurgia. 3. ed. Rio de Janeiro, Guanabara, 1981. p.200-35.
- 19.COLE, W. R. & BERNARD, H. R. Inadequacies of present methods of surgical skin preparation. Arch. Surg., 89:215-18, 1964.
- 20.CROWDER JR., V. H. et. al. Bacteriological comparison of hexaclarophene and polyvinylpyrrolidone-iodine surgical scrub soaps. Am. Surg., 33:906-11, 1967.
- 21.CRUSE, P. J. E. & FOORD, R. The epidemiology of wound infection. A 10 year prospective study of 62.939 wounds. Clin. Cir. Am. North., 27-40, Feb. 1980.
- 22.CRUSE, P. Surgical infection: incisional wounds. In: BENNETT, J. V. & BRACHMAN, P. S. Hospital infection. 2. ed. Boston, Little Brown, 1987. p.423-36.
- 23.CUNHA, J. C. Medidas preventivas e tratamento das infecções cirúrgicas. Clinica Geral, 11:41-6, 1977.
- 24.DASCHNER, F. Infectious hazards in rooming-in systems. J. Perinat. Med., 12:3-6, 1984.
- 25.EHRENKRANS, N. J. Surgical wound infection occurrence in clean operations. Risk stratification for interhospital comparisons. Am. J. Med., 70:909-14, 1981.
- 26.ELEK, S.D. & CONEN, P.E. The virulence of Staphylococcus pyogenes for man: a study of the problems of wound infection. Br. J. Exp. Pathol., 38:573, 1957.
- 27.ENCICLOPEDIA BARSA. Rio de Janeiro, Encyclopaedia Britannica, 1965. 14 v. v. 7. p. 379-81.

- 28.FERRAZ, E. M. et. al. Incidência de infecções em pacientes operados por patologia do aparelho digestivo. Rev. Col. Bras. Cir., 6:255-60, 1979.
- 29.FERRAZ, E. M. et. al. Variação da incidência de infecção pós-operatória relacionada com o tipo de cirurgia executada. Rev. Col. Bras. Cir., 7:1-4, 1980.
- 30.FERRAZ, E. M. et. al. Etiologia das infecções pós operatórias do aparelho digestivo. Rev. Col. Bras. Cir., 7:113-6, 1980.
- 31.FERRAZ, E. M. Infecção pós-operatória. editorial. Rev. Col. Bras. Cir., 8:201-2, 1981.
- 32.FERRAZ, E. M. et. al. Inquérito nacional sobre infecções pós-operatórias. Rev. Col. Bras. Cir., 8:253-62, 1981.
- 33.FERRAZ, E. M. Manual de controle de infecção em cirurgia. São Paulo, Colégio Brasileiro de Cirurgiões, E.P.U., 1982. 346 p.
- 34.FINEGOLD, S. M. & MARTIN, J. W. Diagnostic microbiology. 6. ed. St. Louis, C. V. Mosby, 1982. 670 p.
- 35.FONTES, B. Infecção e trauma. In: BIROLINI, D. & OLIVEIRA, M. R. Cirurgia do trauma. Rio de Janeiro, Atheneu, 1985. p. 43-64.
- 36.FRANK, M. J. & SCHAFNER, W. Contaminated aqueous benzalkonium chloride; an unnecessary hospital hazard. JAMA, 236:2418- 9, 1976.
- 37.FRANZOSI, F. M. Implicações no preparo da pele e curativos cirúrgicos na sala de operação. Rev. Paul. Hosp., 24:39-40, 1976.

- 38.FUCHS, F. D. et. al. Infecção hospitalar: apresentação de um sistema operacional de controle epidemiológico. Rev. Assoc. Med. Bras., 29:174-7, 1983.
- 39.FURNAS, D. W. The universal sterilization principle and a corolary. Ann. Plast. Surg., 12:387-93, 1984.
- 40.HOWARD, R. J. & SIMMONS, R. L. Surgical infectious diseases. 2 ed. Norwalk, Connecticut / San Mateo, California, Appleton & Lange, 1988 p.1-114.
- 41.HOWARTH, F. H. Prevenção da infecção transmitida pelo ar durante a cirurgia. Rev. Paul. Hosp., 24:366-8, 1976.
- 42.HUNT, T. K. Surgical wound infections: an overview. Am. J. Med., 70:712-18, 1981.
- 43.HUTZLER, R. U. et. al. Incidência de infecções hospitalares. Rev. Hosp. Clin. Fac. Med. São Paulo, 28(Supl.):1-7, 1973.
- 44.HUTZLER, R. U. et. al. Aspectos microbiológicos de infecções hospitalares. Rev. Hosp. Clin. Fac. Med. São Paulo, 28(Supl.):18-30, 1973.
- 45.HUTZLER, R. U. Infecções hospitalares. In: VERONESI, R. Doenças infecciosas e parasitárias. 6. ed. Rio de Janeiro, Guanabara, 1976. p. 574-8.
- 46.JIBERTONI, J. et. al. Avaliação de um método de anti-sepsia da pele de mãos e antebraços de equipes cirúrgicas sem uso prévio de escova e sabão. Rev. Hosp. Clin. Fac. Med. São Paulo, 28(Supl.):42-51, 1973.
- 47.KASLOW, R. A. et. al. Nosocomial pseudobacteremia. Positive blood cultures due to contaminated benzalkonium antiseptic. JAMA, 236:2407-9, 1976.

- 48.KOCH, O. T. S. et. al. Incidência de infecção hospitalar - Hospital Belo Horizonte. Rev. Assoc. Med. Minas Gerais, 37:5-8, 1986.
- 49.KRUIF, P. Caçadores de micróbios. 4. ed. São Paulo, José Olímpio, 1949. 325 p.
- 50.LACAZ, C. S, Micologia Médica. 7. ed. São Paulo, Sarvier, 1984.
- 51.LAUFMAN, H. What's wrong with our operating rooms? Am. J. Surg., 122:332-43, 1971.
- 52.LAUFMAN, H. Surgical hazard control. Arch. Surg., 107:552-9, 1973.
- 53.LAUFMAN, H. Environmental aspects of the prevention of wound infection. In: SIMMONS, R. L. & HOWARD, R. J. Surgical infections diseases. New York, Appleton Century Crofts, 1982. p. 443-7.
- 54.LEAO, M. T. C. Antibióticos e o controle de infecção hospitalar, Curitiba, Scientia et labor, 1987, 276 p. (Série difusão).
- 55.LIDWELL, O. M. Airborne bacteria and surgical infection. Am. J. Med., 70:693-7, 1981.
- 56.LOWBURY, E. J. L. et. al. Desinfection of the skin of operation sites. Br. Med. J., 2:1039-44, 1960.
- 57.MALLISON, G. F. Microbiologic sampling of the inanimate environment in U. S. hospitals, 1976-1977. Am. J. Med., 70:941-6, 1981.
- 58.MARCHESOTTI, E. et. al. Colonização bacteriana da pele adjacente e infecção da incisão cirúrgica. Rev. Hosp. Clin. Fac. Med. São Paulo, 28 (Supl.):31-41, 1973.

- 59.MARTINS, E. P. Saneamento do ambiente hospitalar. Rev. Paul. Hosp., 23:400-6, 1975.
- 60.MAYHALL, C. G. Surgical infections including burns. In: WENZEL, R. P. Prevention and control of nosocomial infection. Baltimore, Williams & Wilkins, 1987. p. 344-84.
- 61.MELO, S. M. et. al. Colonização bacteriana em soluções usadas como gotas nasais em crianças. J. Ped., 45:43-5, 1978.
- 62.NICHOLS, R. L. Surgical infections. In: CONDON, R. E. & NYHUS, L. M. Manual of surgical therapeutics. 4. ed. Boston, Little, Brown and Company, 1980. p. 291-328.
- 63.FESSOA, G. V. A. et. al. Isolamento de enterobactérias patogênicas em berçários do município de São Paulo. Rev. Inst. Adolfo Lutz, 40:107-27, 1980.
- 64.POSTLETHWAIT, R. W. Principles of operative surgery: anti-sepsis, technique, suture and drains. In: SABISTON JR, D. C. Text book of surgery: the biological basis of modern surgical practice. 12. ed. Philadelphia, W. B. Saunders, 1981. p.317-32.
- 65.QUADRA, A. A. F. et. al. Critérios específicos para a identificação de infecção hospitalar. Rev. Paul. Hosp., 24:448-50, 1976.
- 66.RAJU, G. S. et. al. A bacteriological study of sources of infection in the operating theatre at a teaching hospital. West Indian Med. J., 32:38-43, 1983.
- 67.RHAME, F. S. & SUDDERT, W. D. Incidence and prevalence as used in the analysis of the occurrence of nosocomial infections. Am. J. Epidemiol., 113:1-11, 1981.

68. STANIER, R. Y. et. al. Os primórdios da microbiologia.
In: STANIER, R. Y. et. al. Mundo dos micróbios. São Paulo, Ed. Edgard Blücher, 1969. p.1-27.
69. TEIXEIRA, E. M. Fontes de infecção no hospital. Rev. Paul. Hosp., 20:7-16, 1972.
70. THORWALD, J. O século dos cirurgiões. São Paulo, Boa Leitura. s.d. 350 p.
71. TIMENETSKI, J. Avaliação antibacteriana de desinfetantes químicos de uso hospitalar e doméstico. São Paulo, 1987. 107 p. Tese, doutorado, Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo.
72. TRABULSI, L. R. Microbiologia. São Paulo, Atheneu, 1986.
73. WELCH, C. S. História da cirurgia. In: DAVIS, L. Clínica Cirúrgica. 2. ed. Rio de Janeiro, Guanabara, 1970. p. 1-21.
74. ZANON, U. Desinfetantes, anti-sépticos e infecção hospitalar. Semestre Ter., 12:48-64, 1973.
75. ZANON, U. et. al. A profilaxia da infecção hospitalar em Curitiba. Resultado de pesquisa operacional. Rev. Paul. Hosp., 23:190-6, 1975.
76. ZANON, U. et. al. Bacteriologia das infecções hospitalares: I- Métodos para o diagnóstico etiológico. Rev. Bras. Patol. Clin., 15:141-9, 1979.
77. ZANON, U. et. al. Reflexões sobre a incidência de infecções cirúrgicas. Rev. Bras. Cir., 68:261-8, 1978.
78. ZANON, U. & ELEY, J. L. Métodos de anti-sepsia em cirurgia - tradição, ritual e caos. Rev. Bras. Cir., 69:335-42, 1979.

- 79.ZANON, U. et. al. Infecções broncopulmonares hospitalares - epidemiologia e controle. Rev. Bras. Cir., 69:217-23, 1979.
- 80.ZANON, U. & LISEOA, F. Biologia e profilaxia das infecções cirúrgicas. Rev. Bras. Cir., 71:111-7, 1981.
- 81.ZANON, U & MACEDO, H. M. Avaliação in vivo de anti-sépticos cirúrgicos. Rev. Bras. Cir., 71:355-8, 1981.
- 82.ZANON, U. Epidemiologia e controle de infecções hospitalares. São Paulo, Centro São Camilo de desenvolvimento em administração da saúde, s.d. 87 p.
- 83.ZANON, U. et. al. Infecção hospitalar: A explosão dos estafilococos, a mudança ecológica dos Gram-negativos e os patógenos esdrúxulos dos anos 80. Prat. Hosp., 1:39-45, 1986.
- 84.ZANON, U. & NEVES, J. Infecções hospitalares: prevenção, diagnóstico e tratamento. Rio de Janeiro, Medsi, 1987. 986 p.